

Московский государственный университет
имени М.В. Ломоносова
Биологический факультет
Кафедра физиологии человека и животных

На правах рукописи

МЕРЧИЕВА Светлана Анатольевна

ОТСТАВЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ НЕОНАТАЛЬНОГО
ВВЕДЕНИЯ ФЛУВОКСАМИНА
И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПРЕПАРАТОМ СЕМАКС

специальность 03.03.01 - физиология

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
д.б.н. Н.Г. Левицкая

МОСКВА - 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	6
ВВЕДЕНИЕ	8
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
I. ДЕПРЕССИВНЫЕ РАССТРОЙСТВА	12
1.1. ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ	13
1.2. ДОРОДОВАЯ И ПОСЛЕРОДОВАЯ ДЕПРЕССИИ	15
II. СЕРОТОНИНОВАЯ СИСТЕМА МОЗГА. РАЗВИТИЕ 5-НТ СИСТЕМЫ	18
2.1. РЕЦЕПТОРЫ СЕРОТОНИНА	20
2.2. ТРАНСПОРТЕР СЕРОТОНИНА (SERT)	22
2.3. РАЗВИТИЕ 5-НТ СИСТЕМЫ МОЗГА	23
2.4. РОЛЬ 5-НТ В ПРЕНАТАЛЬНОМ И НЕОНАТАЛЬНОМ РАЗВИТИИ	24
III. ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДЕПРЕССИИ. СЕЛЕКТИВНЫЕ ИНГИБИТОРЫ ОБРАТНОГО ЗАХВАТА СЕРОТОНИНА	25
3.1. ЭФФЕКТЫ ПРЕНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ СИОЗС (КЛИНИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ)	31
3.2. ОСТРЫЕ И ОТСТАВЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ПЕРИНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ СИОЗС В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ЖИВОТНЫХ	34
IV. МЕЛАНОКОРТИНОВАЯ СИСТЕМА. ПРИРОДНЫЕ И СИНТЕТИЧЕСКИЕ МЕЛАНОКОРТИНЫ	39
4.1. ЭКСТРАГОРМОНАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ МЕЛАНОКОРТИНОВ	40
4.2. АНАЛОГ АКТГ ₄₋₁₀ СЕМАКС	41
4.2.1. ЭФФЕКТЫ НЕОНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ СЕМАКСА	42
4.2.2. КОРРЕКЦИЯ СЕМАКСОМ НЕГАТИВНЫХ ПОСЛЕДСТВИЙ НЕОНАТАЛЬНОГО СТРЕССА	43
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	45
I. СХЕМА ЭКСПЕРИМЕНТА	45
II. МЕТОДЫ ТЕСТИРОВАНИЯ	47
Оценка уровня психомоторного развития и физической выносливости крысят	47
Оценка двигательной активности, ориентировочно-исследовательского поведения и тревожно-фобического состояния	48

крыс	
Оценка способности животных к обучению	50
Оценка выраженности депрессивных составляющих поведения	51
Оценка уровня пищевой мотивации и содержания глюкозы в крови	51
III СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ДАННЫХ	52
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	53
ГЛАВА 1. ОСТРЫЕ ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО НЕОНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ФЛУВОКСАМИНА С 1-ГО ПО 14-Й ДНИ ЖИЗНИ КРЫС	53
1.1. Оценка показателей физического развития крыс	53
1.1.1. Влияние неонатального введения флувоксамина на выживаемость животных	53
1.1.2. Влияние неонатального введения флувоксамина на возраст открытия глаз	53
1.1.3. Влияние неонатального введения флувоксамина на изменение массы тела крыс	55
1.1.4. Влияние неонатального введения флувоксамина на развитие двигательных функций	56
1.2. Влияние неонатального введения флувоксамина на содержание биогенных аминов и их метаболитов в различных отделах мозга крыс в возрасте 16 дней	58
1.3. Обсуждение результатов	61
ГЛАВА 2. ВЛИЯНИЕ ФЛУВОКСАМИНА НА ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ, ПОВЕДЕНИЕ И СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ БИОГЕННЫХ АМИНОВ КРЫС В АДОЛЕСЦЕНТНОМ ПЕРИОДЕ. КОРРЕКЦИЯ СЕМАКСОМ ЭФФЕКТОВ ФЛУВОКСАМИНА	65
2.1. Влияние флувоксамина и семакса на изменение массы тела крыс в возрасте 15-30 дней	65
2.2. Оценка ориентировочно-исследовательской активности и уровня тревожности белых крыс в возрасте 30-31 день	67
2.2.1. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в бесстрессорной модификации теста ОП на 30 день постнатального развития	67
2.2.2. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” на 31 день	70

	постнатального развития	
2.3.	Влияние флувоксамина и семакса на содержание биогенных аминов и их метаболитов в мозге крыс в возрасте 1 месяца	75
2.4.	Обсуждение результатов	80
ГЛАВА 3.	ВЛИЯНИЕ НЕОНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ФЛУВОКСАМИНА НА ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ, ПОВЕДЕНИЕ И СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ БИОГЕННЫХ АМИНОВ КРЫС В ВОЗРАСТЕ 30-63 ДНЕЙ. ВЛИЯНИЕ СЕМАКСА НА ОТСТАВЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ФЛУВОКСАМИНА	83
3.1.	Влияние флувоксамина и семакса на показатели физического развития крыс	83
3.1.1.	Влияние флувоксамина и семакса на изменение массы тела крыс	83
3.1.2.	Оценка уровня физической выносливости в возрасте 33 дня	85
3.2.	Влияние флувоксамина и семакса на способность крыс к обучению	86
3.2.1	Влияние флувоксамина и семакса на выработку пищедобывательного рефлекса на место в сложном лабиринте	86
3.2.2.	Влияние флувоксамина и семакса на выработку условного рефлекса пассивного избегания болевого раздражителя	88
3.3.	Влияние флувоксамина и семакса на уровень пищевой мотивации	89
3.4.	Оценка ориентировочно–исследовательской активности и уровня тревожности крыс в возрасте 2 месяца	90
3.4.1.	Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения крыс в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” на 60 день постнатального развития	90
3.4.2.	Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в О-образном лабиринте на 61 день постнатального развития	93
3.4.3.	Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в стрессогенной модификации теста ОП на 62 день постнатального развития	94
3.5.	Оценка выраженности депрессивных составляющих поведения крыс	95
3.5.1.	Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в тесте “принудительное плавание” на 55 день постнатального развития	95
3.5.2.	Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в тесте “предпочтение сахарозы ” на 58 день постнатального развития	98

3.6.	Влияние флувоксамина и семакса на содержание биогенных аминов и их метаболитов в мозге крыс в возрасте 2 месяца	99
3.7.	Обсуждение результатов	102
ЗАКЛЮЧЕНИЕ		108
ВЫВОДЫ		114
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ		115

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКТГ	-	адренокортикотропный гормон
в/б	-	внутрибрюшинное введение
ГАМК	-	гамма-аминомасляная кислота
ГБК	-	гомованиловая кислота
ГГА	-	гипоталамо-гипофизарно-адреналовая система
ДА	-	дофамин
ДОФУК	-	3,4-диоксифенилуксусная кислота
и/н	-	интраназальное введение
ИМАО	-	ингибиторы моноаминоксидазы
КРФ	-	кортикотропин-рилизинг-фактор
лк	-	люкс
ЛП	-	латентный период
МК	-	меланокортины
МСГ	-	меланоцитстимулирующий гормон
МК1Р- МК5Р-		рецепторы меланокортинов
НА	-	норадреналин
НИ	-	неонатальная изоляция
ОКР	-	обсессивно-компульсивное расстройство
ОП	-	открытое поле
ПКЛ	-	приподнятый крестообразный лабиринт
ПНД	-	постнатальный день
ПОМК	-	проопиомеланокортин
СИОЗС	-	селективные ингибиторы обратного захвата серотонина
СМЖ	-	спинномозговая жидкость
ТЦА	-	трициклические антидепрессанты
УРПИ	-	условный рефлекс пассивного избегания
ФА	-	флувоксамин
ЦНС		центральная нервная система
BDNF		нейротрофический фактор мозга (brain-derived neurotrophic factor)

MAO	-	моноаминоксидаза
NET	-	белок-переносчик норадреналина
SERT	-	белок-переносчик серотонина
VMAT	-	везикулярный моноаминный транспортер
5-ГИУК	-	5-гидроксииндолуксусная кислота
5-НТ	-	5-гидрокситриптамин, серотонин
5-НТ1-7	-	рецепторы серотонина

ВВЕДЕНИЕ

К настоящему времени депрессивные состояния являются одними из самых распространенных психических расстройств. По существующим прогнозам к 2020 году депрессия выйдет на второе место среди причин нетрудоспособности, уступая лишь сердечно-сосудистым заболеваниям [Kupfer, 1999]. Женщины намного больше подвержены депрессии, чем мужчины. Депрессивные симптомы регистрируются у 14-23% женщин в период беременности [Yonkers et al., 2009]. Среди них значительное место занимают эндогенные депрессии, т.е. депрессивные состояния, не связанные по своему происхождению с какими-либо внешними причинами (психогенными, ситуационными) или соматическими заболеваниями; состояния, возникающие в результате нарушения процессов нервно-психической деятельности организма.

Одним из важнейших вопросов в современной психиатрии является выбор терапии депрессивных расстройств. Среди препаратов, наиболее рекламируемых на фармацевтическом рынке, за последние два десятилетия получили распространение так называемые антидепрессанты третьего поколения, являющиеся представителями нового класса фармакологических средств - селективных ингибиторов обратного захвата серотонина (СИОЗС) [Пантелеева и др., 2000]. СИОЗС являются препаратами первой очереди при лечении депрессивных расстройств, в том числе для лечения депрессий у беременных и кормящих женщин. Тяжелые формы дородовой депрессии нельзя не лечить, т.к. заболевание может нанести вред не только матери, но и будущему ребенку. В настоящее время по различным источникам от 6 до 13% женщин в период беременности принимают СИОЗС [Smith et al., 2013; Haskell et al., 2013]. Известно, что препараты этой группы хорошо проникают через плацентарный барьер, и плод подвергается воздействию физиологически активных доз СИОЗС [Casper et al., 2011]. Однако, несмотря на это, последствия воздействия СИОЗС на развивающийся организм до настоящего времени недостаточно изучены. В ряде клинических исследований показано, что СИОЗС негативно влияют на исход беременности: отмечается увеличение числа спонтанных выкидышей и неонатальной смертности, возрастание риска преждевременных родов, снижение веса новорожденных. Кроме того, воздействие СИОЗС в период беременности (особенно последнего триместра) приводит к задержке психомоторного развития новорожденных [Diav-Citrin, 2012; Olivier et al., 2011]. Наблюдения за детьми, получавшими пренатально селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, в большинстве случаев проводились в ранний период, не позднее полутора лет. Сведения об отставленных эффектах пренатального воздействия СИОЗС ограничены, что связано с

долговременностью и сложностью проведения таких исследований в клинике [Olivier et al., 2011; Harris et al., 2012; Casper et al., 2003]. Поэтому изучение острых и отставленных эффектов перинатального воздействия препаратов группы СИОЗС и поиск путей их коррекции является актуальной задачей современной физиологии и медицины.

Последствия воздействия препаратов группы СИОЗС на развивающийся мозг активно исследуются в экспериментах на животных, главным образом на грызунах. Периодом развития центральной нервной системы (ЦНС) человека, наиболее чувствительным к действию СИОЗС, является третий триместр беременности [Casper et al., 2003]. Данные по созреванию ЦНС позволяют сопоставить последний триместр беременности у человека с первыми неделями жизни у крыс [Karpova et al., 2009; Thompson et al., 2009]. Поэтому неонатальное воздействие СИОЗС в течение первых недель жизни крыс можно рассматривать как модель для изучения эффектов пренатального воздействия препаратов этой группы в течение III триместра беременности у человека [Lee, Lee, 2012].

Одним из современных антидепрессантов из группы СИОЗС является флувоксамин (ФА). По фармакологическим свойствам флувоксамин близок к флуоксетину (прозак), но отличается более высокой эффективностью и селективностью [Hrdina, 1991]. Ранее в нашем научном коллективе были получены предварительные данные о негативных эффектах неонатального введения этого антидепрессанта [Володина, 2011]. Однако для детального анализа острых эффектов и долговременных последствий воздействия флувоксамина на развивающуюся нервную систему, а также для выяснения механизмов этих эффектов были необходимы дальнейшие исследования.

Гептапептид семакс (МЕНFPGP) является синтетическим аналогом АКТГ₄₋₁₀ пролонгированного действия [Ashmarin et al., 1995; Dolotov et al., 2006]. Данный препарат давно используется в клинике в качестве ноотропного и нейропротекторного препарата, также обладает нейротрофическим действием [Ашмарин и др., 1997; Левицкая и др., 2002; Dolotov et al., 2006]. Данные об эффектах неонатального введения семакса детенышам белых крыс, полученные ранее [Себенцова и др., 2005; Володина и др., 2011], позволили нам предположить возможность коррекции семаксом последствий неонатального введения селективного ингибитора обратного захвата серотонина.

Целью представленной работы явилось исследование острых и отставленных эффектов хронического неонатального введения селективного ингибитора обратного захвата серотонина флувоксамина детенышам белых крыс, а также оценка возможности коррекции этих эффектов при помощи препарата семакс.

Перед нами были поставлены следующие **задачи**:

- изучение влияния хронического неонатального введения флувоксамина на физическое развитие, эмоциональное состояние и способность к обучению самцов и самок белых крыс различного возраста;
- оценка функционального состояния системы биогенных аминов мозга крыс разного возраста, подвергавшихся воздействию флувоксамина в ранний постнатальный период;
- оценка возможности коррекции отставленных негативных эффектов неонатального введения флувоксамина последующим введением препарата семакс.

Научная новизна. В представленной работе впервые проведено исследование острых эффектов неонатального введения антидепрессанта флувоксамина. Показано, что введение препарата в течение первых недель жизни крыс приводит к повышению летальности, замедлению становления двигательных функций и соматического роста крысят. Также впервые детально исследованы долговременные эффекты неонатального введения флувоксамина. Показано, что неонатальное введение флувоксамина приводит к повышению уровня тревожности в условиях повышенной стрессорной нагрузки и нарушению способности к обучению животных в тестах с различным знаком подкрепляющего раздражителя. Кроме того, у крыс, получавших неонатально флувоксамин, наблюдаются долговременные изменения функциональной активности системы биогенных аминов мозга. В работе впервые показано, что хроническое интраназальное введение семакса с 15 по 28 дни постнатального развития в значительной степени компенсирует негативные последствия введения флувоксамина – нормализует поведение и состояние системы биогенных аминов мозга крыс.

Положения, выносимые на защиту

1. Используемую в экспериментах модель введения флувоксамина в течение первых недель постнатального развития крысят можно рассматривать как модель для изучения долговременных эффектов пренатального воздействия СИОЗС в клинической практике.
2. Ежедневное внутрибрюшинное введение флувоксамина в дозе 10 мг/кг с 1 по 14 дни жизни крыс вызывает уменьшение массы тела крыс, приводит к снижению возраста открытия глаз и нарушению становления двигательных функций.
3. Хроническое неонатальное введение флувоксамина приводит к отставленному замедлению соматического роста, повышению уровня тревожности в условиях повышенной стрессорной нагрузки и нарушению выработки условных рефлексов.
4. Введение флувоксамина в неонатальный период приводит к долговременным изменениям функциональной активности системы биогенных аминов мозга крыс.

5. Хроническое интраназальное введение семакса с 15 по 28 дни постнатального развития в значительной степени компенсирует негативные последствия неонатального введения флувоксамина.

Теоретическое и научно-практическое значение работы.

Согласно клиническим данным, пренатальное воздействие препаратов группы СИОЗС негативно влияет на исход беременности и состояние новорожденных. Проведенное исследование показало, что неонатальное введение флувоксамина приводит к увеличению уровня летальности, замедлению соматического роста и задержке моторного развития крыс, что доказывает адекватность использованной модели для исследования эффектов пренатального воздействия препаратов этой группы у человека. Данная модель может быть использована для изучения механизмов отставленных эффектов пренатального введения СИОЗС и поиска путей их коррекции.

Проведенное исследование состояния системы биогенных аминов мозга крыс разного возраста, получавших неонатально флувоксамин, способствуют выяснению механизмов долговременных последствий перинатального воздействия СИОЗС.

Практическая значимость проведенного исследования определяется тем, что препарат флувоксамин, как и другие СИОЗС, применяется при лечении депрессивных расстройств у беременных и кормящих женщин. Полученные в работе результаты необходимо учитывать при назначении препаратов из группы селективных ингибиторов обратного захвата серотонина женщинам в период беременности. Кроме того, полученные результаты свидетельствуют о возможности применения лекарственного препарата семакс для коррекции негативных последствий пренатального применения антидепрессантов группы СИОЗС.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

I. ДЕПРЕССИВНЫЕ РАССТРОЙСТВА

Депрессия — это психическое расстройство, характеризующееся ангедонией (снижением настроения и утратой способности переживать радость), а также такими симптомами как плохое настроение, низкая самооценка, чувство вины, двигательная заторможенность, беспомощность, усталость, расстройство аппетита, плохая концентрация и суицидальные мысли или действия. Связанные с ними физиологические отклонения включают гиперактивность эндокринной и вегетативной нервной системы [Ansorge et al., 2007; Kummet et al., 2012; Ruedi-Bettschen et al., 2006]. Как показали клинические исследования, у пациентов, страдающих депрессией, часто наблюдаются серьезные когнитивные расстройства, такие как дефицит рабочей памяти, селективного внимания и долговременной памяти [Hasler et al., 2004]. Показано, что женщины страдают депрессией примерно в два раза чаще, чем мужчины [Olivier et al., 2008].

Проблема депрессивных расстройств является актуальной на протяжении длительного времени, но особое значение она стала приобретать в последние десятилетия. Это связано, прежде всего, с ростом числа больных с данной патологией и увеличением ее влияния на жизнь общества в целом. По существующим прогнозам к 2020 году депрессия выйдет на второе место среди причин нетрудоспособности, уступая лишь сердечно-сосудистым заболеваниям [Kupfer, 1999]. Эпидемиологические исследования показывают, что депрессивные состояния разной степени выраженности встречаются у многих людей (более 10% населения). [Yonkers et al., 2009]. Поэтому одним из важнейших вопросов в современной психиатрии является выбор актуальной терапии депрессивных расстройств. Причинами, приводящими к развитию депрессивных состояний, могут быть хронический стресс, травмы головы и нарушение мозгового кровообращения. Чаще депрессивные состояния возникают при повреждениях в районе левых фронтальных или левых базальных ганглиев. Обследования пациентов методом ПЭТ (позитронно-эмиссионная томография) указывают на снижение метаболизма (оценивается по потреблению мозгом кислорода и глюкозы) в префронтальных областях коры, особенно выраженное в зрительной зоне коры и базальных ганглиях. [Ещенко, 2004].

При депрессии наблюдается уменьшение скорости серотонинергической передачи и заметно снижен уровень основного метаболита серотонина - 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) в спинномозговой жидкости больных (СМЖ) [Neumeister et al., 2004; Olivier et al., 2008]. Более того, отмечено, что низкое содержание этого вещества в СМЖ

коррелирует со склонностью пациентов к суициду. Также у людей, страдающих депрессией, наблюдаются уменьшение уровня серотонина в ядрах шва и снижение концентрации в крови триптофана, предшественника серотонина [Ещенко, 2004]. Показано, что у пациентов с большой депрессией повышен уровень кортизола в крови. Поскольку в регуляции эмоционального состояния и познавательного процесса важную роль играет гиппокамп, а увеличение кортизола может вызвать его атрофию, то совершенно ясно, что в патогенезе депрессий важнейшую роль играет гипоталамо-гипофизарно-адреналовая (ГГА) система [McGaugh and Roozendaal, 2002; Francis et al., 1999].

В настоящее время очевидно, что понимание механизмов развития депрессии и разработка новых стратегий терапии этого заболевания требуют принципиально новых теорий возникновения депрессивных расстройств.

1.1. ВОЗМОЖНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РАЗВИТИЯ ДЕПРЕССИВНЫХ РАССТРОЙСТВ

Наиболее распространенной теорией возникновения депрессий является так называемая «моноаминовая теория», которая предполагает что в основе механизмов развития депрессивных состояний лежит подавление моноаминергических медиаторных систем мозга. Моноаминовая теория связывает развитие депрессии с дефицитом биогенных аминов, а именно серотонина, норадреналина и дофамина [Ansorge et.al., 2007; Ещенко, 2004]. Система биогенных аминов мозга более 50 лет считалась основной мишенью действия антидепрессантов и рассматривалась как точка фокуса исследований, направленных на изучение молекулярных и физиологических механизмов развития депрессии.

Биосинтез и превращения норадреналина, дофамина и серотонина (как и других медиаторов) являются при физиологическом состоянии организма биологически сбалансированным процессом, участвующим в обеспечении нормального функционирования нервной системы. Существует ряд эндогенных механизмов, регулирующих «кругооборот» этих нейромедиаторов. Так, при повышении концентрации норадреналина и дофамина в пресинаптических нервных окончаниях тормозится активность «ключевого» синтезирующего их фермента – тирозингидроксилазы. Наоборот, при снижении их содержания в лабильном цитоплазматическом депо активность тирозингидроксилазы повышается и концентрация нейромедиаторов увеличивается [Арушанян, 1987; Plaznik et.al., 1989].

Клинические наблюдения и экспериментальные результаты свидетельствуют о существенном подавлении серотонинергической трансмиссии при депрессивных состояниях. У ряда больных состояние депрессии связано прежде всего с относительным

недостатком серотонина. Доказательством этого служит быстрый положительный эффект от применения антидепрессантов нового поколения – селективных ингибиторов обратного захвата серотонина, которые избирательно блокируют обратный захват серотонина и таким образом повышают концентрацию медиатора в синаптической щели. Кроме того, препараты этого класса вызывают адаптивные изменения в структуре некоторых подтипов серотониновых рецепторов (5-HT_{1A} и особенно 5-HT_{2A}), повышая их чувствительность к медиатору. Длительное применение таких антидепрессантов приводит к сенситизации постсинаптических 5-HT_{2A}-рецепторов [Ещенко, 2004].

Таким образом, согласно «моноаминовой теории», в основе развития депрессивных состояний лежит ослабление моноаминергической (серотонинергической и норадренергической) трансмиссии, которое дополняется нарушениями других регуляторных систем [Ansorge et al., 2007]. Однако, некоторые исследователи приходят к выводу о недостаточной широте моноаминовой теории депрессии, так как она не объясняет ограничения в эффективности антидепрессантов и медленное развитие их лечебного эффекта.

В настоящее время существует также нейротрофическая теория развития депрессии, основанная на данных о вовлеченности нейротрофических факторов, регулирующих выживаемость нейронов, нейрогенез и нейрональную пластичность, в процессы, лежащие в основе патофизиологии депрессии. Известно, что хронический стресс снижает экспрессию мозгового нейротрофического фактора (BDNF) в лимбических структурах, контролирующих настроение. При этом показано, что лечение антидепрессантами ослабляет последствия такого стресса [Duman, Monteggia, 2006; Ansorge et.al., 2007]. Снижение уровня BDNF, а также других нейротропных факторов может способствовать атрофии некоторых лимбических структур, в том числе гиппокампа и префронтальной коры, что было отмечено у депрессивных больных. Гиппокамп является структурой лимбической системы, которая играет важную роль в процессе формирования аффективных расстройств. К функциям гиппокампа относятся контроль обучения и памяти и регулирование гипоталамо-гипофизарно-адреналовой (HPA) оси. Кроме того, гиппокамп тесно связан с миндалиной и префронтальной корой, областями, непосредственно участвующими в становлении эмоциональной памяти и когнитивных функций [Ansorge et.al., 2007]. Достоверное уменьшение объема гиппокампа у больных депрессией отмечалось уже после первого депрессивного эпизода. Было показано, что клинически применяемые антидепрессанты способны увеличивать экспрессию BDNF в гиппокампе, а также нейротрофического фактора глиальных клеток (GDNF) и их рецепторов [Karege et.al., 2005]. В экспериментах на грызунах также показано, что при

хроническом стрессе снижается уровень BDNF, нейрогенез и общий объем гиппокампа. Антидепрессанты, включая ингибиторы моноаминоксидазы, селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, трициклические антидепрессанты, повышают экспрессию BDNF в головном мозге крыс. Хроническое лечение антидепрессантами также значительно увеличивает нейрогенез в гиппокампе у взрослых особей [Malberg et.al., 2000; Duman, 2004].

1.2. Дородовая и послеродовая депрессии

Женщины намного больше подвержены депрессии, чем мужчины. При этом повышенный риск развития депрессивных состояний у женщин отмечается во время беременности и в послеродовом периоде. По различным данным, депрессивные состояния регистрируются у 10-18% женщин в период беременности [Homberg et al., 2011; Altamura et al., 2013; Yonkers et al., 2009]. Распространенность депрессии во время беременности составляют 7,4%, 12,8% и 12,0% в течение первого, второго и третьего триместров, соответственно [Diav-Citrin, Ornoy, 2012; Ornoy et al., 2013]. У 20% женщин депрессивное состояние может наблюдаться в первый год после рождения ребенка [Judd et al., 1998; Nijenhuis et al., 2011; Homberg et al., 2009; Kelly et al., 2001]. Дородовая депрессия сопровождается низкой посещаемостью женских консультаций, плохим питанием, повышенным риском курения, злоупотребления алкоголем и наркотиков. Все это оказывает негативное воздействие на развитие мозга плода и вызывает долгосрочные изменения поведения ребенка [Udechuku et al., 2010; Thompson et al., 2009; Hanley, Oberlander, 2014]. Медикаментозное лечение дородовой депрессии вызывает беспокойство в связи с риском для развивающегося плода и новорожденного [Rampono et al., 2009; Wisner et al., 2000].

Дородовая депрессия может развиваться из-за того, что в женском организме происходят биологические и гормональные изменения. У 10-25% беременных женщин отмечаются симптомы, которые позволяют установить клинический диагноз депрессии. Среди таких симптомов - плохое настроение, раздраженность, чрезмерная плаксивость, частая смена настроения и постоянная бессонница. Однако такие отклонения периодически переживают все беременные женщины [Hanley, Oberlander, 2014; Olivier et al., 2013]. Birndorf и соавт. [Birndorf et al., 2001] выявили корреляцию между депрессивными нарушениями и функциональным состоянием беременных женщин в первом триместре беременности. Было обнаружено, что женщины с различной выраженной степенью тревоги или депрессии имеют более выраженные соматические нарушения. Таким образом, при патологии протекания беременности необходимо

определять не только соматические причины функциональных нарушений, но и психический статус женщины.

В основе развития дородовой депрессии лежат нейрохимические изменения, а именно, функциональный дефицит серотонинергической и дисрегуляция норадренергической системы [Nestler et al., 2002]. Важную роль в патогенезе депрессий играют регуляторные пептиды, в первую очередь кортикотропин-рилизинг-фактор (КРФ) [Farvolden et al., 2003]. При изучении влияния острых и хронических стрессов на развитие депрессии было показано, что под воздействием КРФ, синтезирующегося в гипоталамусе, при стрессе повышается уровень адренокортикотропного гормона (АКТГ), который, в свою очередь, провоцирует выброс кортизола корой надпочечников. В норме кортизол тормозит функционирование гипоталамо-гипофизарной системы по механизму отрицательной обратной связи. При депрессии этот механизм нарушается, в результате чего в крови большинства больных постоянно повышено содержание АКТГ и кортизола, причем концентрация последнего прямо коррелирует с тяжестью депрессии [Doris et al., 1999; Nestler et al., 2002]. Известно, что при беременности повышаются уровни прогестерона, эстрогенов, КРФ, АКТГ и кортизола. В третьем триместре беременности повышенный уровень КРФ может быть вызван увеличением секреции плацентарного КРФ. С потенциально патологическим воздействием повышенного уровня КРФ связывают развитие меланхолической депрессии, пищевых расстройств и алкоголизма [Heather et al., 2004; Chang, 2014]. Повышенный уровень кортизола ингибирует синтез и активность эстрадиола, с низким содержанием которого связывают суицидальные попытки небеременных женщин [Heather et al., 2004].

Такие психосоциальные факторы, как нежелательная беременность, нежелание или неготовность стать матерью, деструктивные мотивы зачатия, нетерпимость по отношению к отцу ребенка, враждебное отношение к собственной матери, материальные проблемы, утрата близких и т. д., могут оказывать значительное влияние на развитие депрессивных расстройств. Большое значение имеют индивидуальные особенности личности – эмоциональная готовность к материнству, склонность к эмоциональной амбивалентности, ощущение собственной женственности и т. д. Семья, ожидающая рождения ребенка, стоит на пороге серьезных изменений, поэтому ее функционирование становится нестабильным [Добряков и др., 2004]. Высок риск развития депрессивных расстройств в период беременности у женщин, имеющих наследственную предрасположенность, эпизоды депрессии в анамнезе, а также в случае резкого прекращения лечения антидепрессантами [Misri et al., 2001].

Депрессивные расстройства в период беременности приводят к значительным негативным последствиям. Дородовая депрессия негативно влияет на течение и исход беременности. Увеличивается риск преждевременных родов, нарушается функция фетоплацентарного барьера, замедляется рост плода [Oliver et al., 2013]. Недостаточная прибавка веса у беременной женщины, вызванная ухудшением аппетита на фоне депрессивного расстройства, является фактором риска задержки внутриутробного развития, гипотрофии, а также недоношенности плода, т.е. оказывает патологическое влияние на течение беременности [Lundy et al., 1999; Hanley, Oberlander, 2014]. Процент новорожденных с низким весом выше у женщин, страдающих дородовой депрессией в третьем триместре, по сравнению со здоровыми роженицами [Chang, 2014]. Депрессия, вызванная стрессом, особенно на ранних стадиях беременности, также приводит к нарушению созревания плода, отмечается задержка развития когнитивных функций в младенчестве в возрасте 18 месяцев, а также наблюдаются повышенная тревожность детей в возрасте 6-9 лет и нарушение внимания у 3-4 летних детей [Olivier et al., 2013; Hanley, Oberlander, 2014]. Кроме того, у таких младенцев обнаружены повышенные уровни кортизола и норадреналина и сниженный уровень дофамина [Lundy et al., 1999; Chang, 2014].

Депрессия во время беременности не обязательно означает, что у женщины будет послеродовая депрессия, но примерно у половины женщин, страдающих тяжелой депрессией во время беременности, развивается послеродовая депрессия [Wisner et al., 2009]. По данным, полученным в разных исследованиях, такое состояние регистрируется у 10-15% женщин [LaCouriese et al., 2010; Horowitz et al., 2011; Olivier et al., 2013], иногда указываются и более широкие границы встречаемости. Такая высокая частота послеродовой депрессии противоречит широко распространенному мнению о деторождении как панацее от расстройств настроения и нарушений психики. Депрессивно-подобные симптомы в пред- и послеродовой период нередко воспринимаются молодой матерью и ее окружением как не значимое явление, которое впоследствии пройдет само собой [Wisner et al., 2009].

К основным симптомам послеродовой депрессии относят нарушения сна и аппетита, постоянную усталость, состояние грусти и опустошенности, частый плач; отстранение от семьи, друзей, ранее приятных занятий; сильную озабоченность и беспокойство о ребенке, страх навредить ему, либо, наоборот, отсутствие интереса к новорожденному, а также мысли о суициде. Послеродовая депрессия нередко сопровождается ростом употребления табака, алкоголя и наркотиков, что крайне отрицательно сказывается на атмосфере в семье [Fishnell, 2010].

После родов, молодая мать тратит огромные силы на уход за ребенком, часто практически не заботится о собственном психическом состоянии. При развитии депрессии это чревато нарушениями питания, невниманием к медицинским предписаниям по уходу за собой и новорожденным [Stein et al., 2010]. Наиболее высока вероятность послеродовой депрессии у рожениц подросткового возраста, матерей-одиночек, безработных женщин, а также в случаях незапланированной беременности или тяжелого ее протекания [Lanzi et al., 2009]. К провоцирующим факторам в развитии материнской депрессии, можно отнести физическое состояние женщины после родов – усталость, наличие швов, трудности с принятием пищи и туалетом. Молодые матери переживают за состояние фигуры после родов, болезненно воспринимают появление обвисшего живота, волнуются, что им не удастся восстановить прежние формы. Также, после рождения, женщина находится в состоянии своего рода общественной и информационной изоляции, поскольку основную массу усилий и времени нужно посвятить новорожденному [LaCoursiere et al., 2010]. Установление контакта с семьей, друзьями, врачом может помочь облегчить период после родов и предотвратить либо ослабить развитие депрессии.

Терапия во время беременности может существенно снизить риск развития депрессии. Целью лечебных мероприятий при депрессии у беременной женщины является достижение психической стабильности матери без какого-либо вреда для плода. К основным методам лечения депрессивных расстройств на сегодняшний день относятся психотерапия и фармакотерапия.

Известно, что снижение активности серотонинергической системы мозга тесно связано с развитием депрессивных состояний. Показано, что у женщин с симптомами послеродовой депрессии уровень серотонина в периферической крови был значительно снижен по сравнению со здоровыми женщинами [Maurer-Spurej et al., 2007]. Эксперименты на животных также показали, что синтез серотонина в ядрах шва был снижен у крыс в модели депрессии по сравнению со здоровым контролем [Yang et al., 2008]. Уменьшение уровня серотонина в ядрах шва было также отмечено у самок крыс, подвергавшихся “детской депривации”, что свидетельствует в пользу того, что “детская депривация” вызывает депрессию у кормящих самок [Sung et al., 2010]. Таким образом, серотонинергическая система мозга является одной из ключевых систем при развитии депрессивных расстройств и основной точкой приложения большинства современных антидепрессантов.

II. СЕРОТОНИНОВАЯ СИСТЕМА МОЗГА. РАЗВИТИЕ 5-НТ СИСТЕМЫ.

Серотониновая нейромедиаторная система имеет длительную эволюционную историю и участвует в регуляции широкого круга поведенческих актов и эмоциональных

проявлений [Stein, 2003]. Серотонин (5-гидрокситриптамин, 5-НТ) - биогенный амин с выраженными вазоконстрикторными свойствами - впервые выделен из крови в 1944 г. М. Rapport и соавт. В 1946 г. М. Rapport установил его химическое строение, а спустя два года Е. Hamlin и Е. Fisher осуществили его синтез. 5-НТ является производным индола, близким к триптофану. В 1964 г. А. Dahlstrom и К. Fux выявили наличие в головном мозге серотонинергических нейронов [Иzzати-Заде и др., 2004].

Серотонинергические нейроны сгруппированы в 9 ядрах ствола мозга. Большинство из них совпадает с медиально расположенным ядром шва. Эти нейроны дают проекции к лимбической системе, коре больших полушарий и к базальным ганглиям. Серотонин также обнаружен в нейронах гипоталамуса, черной субстанции, миндалевидного комплекса, в области зрительного бугра, вентральной покрышки, в продолговатом и спинном мозге. Серотонинергические нейроны посылают свои проекции аксонов по всему мозгу, поэтому 5-НТ участвует в регуляции многих центральных процессов. Серотонин играет важную роль в контроле эмоционального состояния и служит одним из регулирующих факторов в системе внутреннего вознаграждения; он принимает участие в регуляции обучения и памяти, пищевого, социального и полового поведения, двигательной активности, контролирует цикл сон-бодрствование, терморегуляцию и целый ряд других вегетативных функций. Наряду с гистамином серотонин участвует в формировании болевой реакции при раздражении чувствительных нервных окончаний. Установлено, что серотонин может выступать не только нейромедиатором, но и выполнять функции нейромодулятора, тем самым может быть вовлечен в патофизиологию и лечение тревоги и расстройства настроения [Marshall et al., 2014; Sarkar et al., 2013; Olivier et al., 2008]. В регуляции аффективных процессов принимают участие восходящие терминали серотонинергических ядер, которые заканчиваются в большом количестве мозговых структур: подкорковых образованиях (хвостатое ядро, скорлупа, переднее и медиальное ядра таламуса), промежуточном, обонятельном мозге и ряде образований, связанных с ретикулярной формацией, коре больших полушарий, миндалевидном теле и гипоталамусе [Dahlstrom, Fuxe, 1965; Wixey et al., 2012]. Впервые 5-НТ нейроны были визуализированы флуоресцентной гистохимией у крыс [Иzzати-Заде и др., 2004]. Значительное внимание к анатомии этих нейронов было привлечено в связи с широким распространением 5-НТ в качестве центрального нейромедиатора [Descarries et al., 1982].

Предшественником серотонина служит аминокислота триптофан. Она транспортируется по крови к мозгу, где в серотонинергических нервных окончаниях под воздействием фермента триптофангидроксилазы преобразуется в 5-гидрокситриптофан.

Последний в свою очередь быстро превращается в серотонин под действием относительно неспецифической декарбоксилазы L-ароматических кислот [Owens, Nemeroff, 1994]. Триптофангидроксилаза – фермент, ограничивающий скорость синтеза серотонина [Rind et al., 2000].

После того, как серотонин синтезируется, он упаковывается в везикулы под действием везикулярного моноаминного транспортера (VMAT), расположенного в мембране пресинаптических окончаний моноаминергических нейронов головного мозга. Повышенный уровень VMAT был зарегистрирован в мозгах пациентов с биполярным расстройством [Yasumoto, Tamura, 2009]. Серотонин удаляется из синаптической щели транспортером серотонина SERT, а затем упаковывается в секреторные пузырьки в синаптическом окончании или деградирует под действием ферментов MAO и альдегиддегидрогеназы. В серотонинергических нейронах обнаружена оксидаза типа MAO-A, которая избирательно ингибируется хлоргилином; этот тип фермента найден также в астроцитах. Часть медиатора может удаляться из синаптической щели системой активного обратного захвата, а затем повторно использоваться в терминали [Ещенко, 2004]. Гормонально выделенный серотонин свободно пересекает плаценту и незрелый гематоэнцефалический барьер, обеспечивая паракринно плод серотином [Bogue et al., 2007].

2.1. РЕЦЕПТОРЫ СЕРОТОНИНА

В центральной нервной системе (ЦНС) млекопитающих идентифицировано и описано семь типов и около 15 генетически различных подтипов серотониновых рецепторов, отнесенных к одному из семи семейств (5-HT₁-7), имеющих разные сигнальные пути [Hornberg et al., 2009]. Каждый подтип демонстрирует уникальное распределение, предпочтение к различным лигандам и функциональную корреляцию. Рецепторы серотонина представлены как метаботропными, так и ионотропными. Среди них прежде всего надо отметить семейство 5HT₁, в которое входит пять подтипов (A, B, D, E, F), представляющих собой протеины, содержащие 365-422 аминокислотных остатков. Представители этого семейства рецепторов сопряжены с Gi-белком, присоединение медиатора приводит к ингибированию аденилатциклазы, а затем – к снижению активности сАМР-зависимых протеинкиназ. 5-HT_{1A}-рецепторы распространены в гиппокампе, миндалине, прозрачной перегородке – структурах, принимающих участие в формировании настроения, в механизмах стрессовой реакции, агрессивного поведения, тревожности и депрессии [Blier, Ward, 2003]. Хорошо известно, что 5-HT_{1A} рецепторы расположены не только на серотонинергических нейронах, но также могут располагаться на нейронах других медиаторов. Есть данные об участии 5-

5-HT_{1A} рецепторов в регуляции нейротрансмиссии γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) [Ророва, Naumenko, 2013]. Рецепторы подтипа 5-HT_{1A} локализованы преимущественно постсинаптически, в то время как для рецепторов подтипов 5-HT_{1B} и 5-HT_{1D} отмечена главным образом пресинаптическая локализация. Характерные поведенческие эффекты, реализуемые через рецепторы 5-HT₁-семейства, включают анксиолитическое действие на разных моделях тревожности, стимуляцию полового поведения (у самцов), гипотермию, повышение двигательной активности, антиагрессивное действие на моделях зоосоциального взаимодействия. Все члены класса рецепторов 5-HT₁ являются сильно и временно экспрессируемыми в эмбриональном таламусе, что предполагает потенциальную роль серотонина в раннем таламическом развитии [Bonnin et al., 2006].

Семейство 5-HT₂-рецепторов состоит из трех подтипов: 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}. Эти рецепторы сопряженные с G₀-белком, реализуют свои эффекты в результате активации фосфолипазы C и запуска фосфоинозитидного каскада. Постсинаптические рецепторы этого семейства имеют наибольшую плотность в структурах мозга [Ещенко, 2004]. В большей степени рецепторы этого класса представлены в пирамидных нейронах лобной доли, скорлупе, в меньшей – в гиппокампе и хвостатом ядре. Они являются звеном системы подкрепления мозга, низкая активность которой обуславливает возникновение ангедонии – одного из ключевых симптомов депрессии. 5-HT_{2A}-рецепторы опосредуют анксиогенный эффект, участвуют в формировании полового поведения и вовлечены в регуляцию сна. Уменьшение их количества отмечено при посмертных исследованиях у лиц, страдавших депрессией и покончивших жизнь самоубийством [Ещенко, 2004]. 5-HT_{2C}-рецепторы ЦНС в наибольшем количестве находятся в гиппокампе, коре головного мозга, полосатом теле и черной субстанции [Stasi et al., 2014].

Серотониновые рецепторы трех типов – 5-HT₄, 5-HT₆ и 5-HT₇ сопряжены с G_s-белком, и взаимодействие их с медиатором вызывает активацию аденилатциклазы и cAMP-зависимых протеинкиназ, а также K⁺- и Ca²⁺-каналов. 5-HT₄-рецепторы максимально представлены в областях, насыщенных дофаминергическими нейронами (базальные ядра, прилежащее ядро). Они локализуются на ГАМК-ергических и холинергических интернейронах и ГАМК-ергических проекциях черной субстанции. Показано, что 5-HT₄ рецепторы вовлечены в когнитивные функции, аффективные симптомы и развитие болезни Альцгеймера [Stasi et al., 2014; Ещенко, 2004]. 5-HT₆-рецепторы расположены в стриатуме, миндалине, гиппокампе, коре, обонятельной луковице. 5-HT₇-рецепторы представлены в гипоталамусе, таламусе, стволе головного мозга. Они могут участвовать в регуляции циркадных ритмов посредством воздействия на супрахиазматические ядра. Установлено, что 5-HT₇-рецепторы обладают необычно

высокой аффинностью к некоторым нейролептикам (рисперидон). В последние годы накапливаются сведения о своеобразном рецепторе 5-HT₃, который, в отличие от всех упомянутых выше, сопряжен с лигандуправляемым ионным каналом [Kato, 2013]. Активация 5-HT₃-рецепторов вызывает изменения в ЦНС, сопоставимые с эффектами, наблюдаемыми после введения нейролептиков и анксиолитических препаратов. Данный рецептор способен модулировать высвобождение таких нейромедиаторов, как дофамин, ГАМК, субстанции Р и ацетилхолин [Stasi et al., 2014].

Особняком стоят и два рецептора семейства 5-HT₅ (подтипы А и В) – для них до сих пор не установлено сопряжения с какой-либо системой внутриклеточной передачи сигнала. 5-HT_{5А}-рецепторы распределены преимущественно в коре, гиппокампе, гипоталамусе и мозжечке. В зависимости от их локализации, 5-HT_{5А} рецепторы участвуют в регуляции нескольких функций, таких как контроль аффективных состояний, чувствительного восприятия и нейроэндокринных функций [Stasi et al., 2014].

Выраженная гетерогенность серотонинергических рецепторов и участие разных механизмов внутриклеточной трансдукции поступивших на рецептор сигналов хорошо коррелирует с многообразием функций, в обеспечении которых принимает участие эта медиаторная система. Нарушение ее работы влечет за собой развитие целого ряда патологических состояний. Так, дефицит или ингибирование серотонинергической трансмиссии связаны с депрессивными состояниями, а активация определенных серотониновых рецепторов приводит к галлюцинациям и встречается при некоторых формах шизофрении. Нарушения работы серотонинергических систем отмечены и при такой патологии, как тяжелые формы мигрени [Ещенко, 2004].

2.2. ТРАНСПОРТЕР СЕРТОНИНА (SERT)

Регулирование уровня серотонина в мозге зависит от транспортера серотонина (SERT), локализованного на пресинаптической клеточной мембране нейронов ядер шва. SERT состоит из 12 трансмембранных доменов, которые охватывают пресинаптическую мембрану [Wixey et al., 2012]. В ЦНС SERT завершает серотониновую нейротрансмиссию путем повторного поглощения 5-НТ из синапса в нервных окончаниях и контролирует продолжительность действия постсинаптической сигнализации 5-НТ в мозге [Olivier et al., 2008]. Блокада SERT приводит к возрастанию серотонинергической нейротрансмиссии. Следовательно, SERT является главной мишенью для лекарственных препаратов, таких как селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, которые могут увеличить внеклеточное содержание серотонина в участках непосредственной близости от тела клеток и дендритов серотонинергических нейронов головного мозга [Bel, Artigas, 1992; Wixey et al., 2012; Gobbi et al., 2001]. Аминокислотные последовательности транспортеров

серотонина и норадреналина (SERT и NET) как у крысы, так и у человека обладают высокой гомологией, существуют различия в ингибирующих эффектах воздействия на эти транспортеры. Поэтому сравнение действия препаратов на SERT и NET в коре головного мозга человека и крысы может способствовать более точному прогнозированию их клинического профиля [Mantovani, Dooley, 2009]. Увеличение длительности действия НА и 5-НТ в синаптической щели представляет собой основной механизм клинической эффективности действия этих препаратов, так как клиническая депрессия связана с недостатком серотонина, норадреналина и дофамина [Mantovani, Dooley, 2009].

2.3. РАЗВИТИЕ 5-НТ СИСТЕМЫ МОЗГА

Классические нейромедиаторы и нейрогормоны, характерные для взрослых животных, начинают синтезироваться на самых ранних стадиях эмбриогенеза. В этот период они играют роль межклеточных сигналов, контролирующих деление клеток, их миграцию и метаболизм [Layer, 1991]. К одной из самых ранних популяций относятся серотонинергические нейроны. У крыс эти нейроны появляются на ранних стадиях развития – на 12 день беременности, у человека – на 5 неделе беременности, т.е. в течение первого триместра беременности [Lidov, Molliver, 1982; Khatri et al., 2014]. Серотонин начинает синтезироваться в нейронах ядер шва сразу после их образования. Содержание серотонина в переднем мозге крыс, начиная с 18-го дня до конца эмбрионального развития, практически не меняется, не превышая 10% от уровня, характерного для взрослых животных [Park et al., 1989]. Значительное увеличение синтеза серотонина происходит после рождения до периода полового созревания. У мышей уровень 5-НТ в мозге возрастает в два раза в течение первой послеродовой недели. У человека содержание серотонина в мозге увеличивается в течение первых двух лет жизни, достигая уровня взрослого человека к пяти годам [Semple et al., 2013]. Первые серотониновые рецепторы выявляются у плодов крыс на 16-й день [Bruinink et al., 1983]. В зрелом мозге SERT экспрессируется только в нейронах ядер шва, однако на ранних стадиях развития паттерн экспрессии транспортера 5-НТ более широк. В середине беременности (у мышей 11 день) синтез SERT начинается в нейронах ядер шва, но затем экспрессия быстро распространяется на другие регионы мозга (сенсорная система, кортиколимбические пути, префронтальная кора) [Wixey et al., 2012]. Позднее 5-НТ может захватываться глутаматергическими нейронами таламуса, лимбической коры и гипоталамуса [Olivier et al., 2011, Homberg et al., 2009]. Экспрессия SERT несеротониновыми нейронами у грызунов заканчивается в течение второй постнатальной недели [Homberg et al., 2011]. Хотя исследования на людях ограничены, получены доказательства широкой экспрессии SERT в период развития – на 8-11 неделях беременности показано наличие транспортера

серотонина в проекциях нейронов, не относящихся к ядрам шва. Функциональное значение временной экспрессии SERT не вполне понятно. Предполагают, что она необходима для реализации функции 5-НТ в процессах развития мозга, которая включает влияние на пролиферацию, дифференциацию, миграцию клеток, апоптоз и синаптогенез [Gaspar et al., 2003]. Активация серотонинергической системы может стимулировать нейрогенез в других областях мозга и, как следствие, более раннее созревание нервной системы в целом [Brezun, Daszuta, 1999]. Серотонин влияет на развитие гипоталамо-гипофизарно-адреналовой (ГГА) системы. Пренатальное воздействие селективных ингибиторов обратного захвата серотонина может изменить развитие и функции ГГА оси [Pawluski et al., 2012].

Активное развитие серотонинергической системы мозга продолжается в постнатальный период – у крыс в неонатальный период (с 1-21 ПНД), у человека в течение первых 2-5 лет жизни [Harris et al., 2012, Maciag et al., 2006]. Активный синаптогенез заканчивается к 21 ПНД у крыс и к 4-м годам у человека. Вторая и третья недели постнатального развития у грызунов отличаются обильным ветвлением серотонинергических аксонов в коре переднего мозга и коре мозжечка, в гиппокампе и в полосатом теле [Deiró et.al., 2008]. Следует отметить, что уровень зрелости 5-НТ системы доношенного новорожденного ребенка соответствует уровню зрелости этой системы у крыс в возрасте 12-13 дней [Homberg et al., 2011].

2.4. Роль 5-НТ в ПРЕНАТАЛЬНОМ И НЕОНАТАЛЬНОМ РАЗВИТИИ

Во взрослом организме 5-НТ является нейромедиатором, осуществляющим регуляцию эмоционального состояния, стрессорного ответа, уровня arousal, сна, когнитивных функций и внимания. Однако в период активного развития нервной системы моноамины играют роль трофических факторов. В пренатальный и ранний постнатальный период серотонин является сигнальным фактором в процессах клеточной пролиферации, дифференцировки, миграции, миелинизации волокон, синаптогенеза и роста и ветвления дендритов в нервной ткани, а также влияет на развитие эпителиальной ткани [Homberg et al, 2010; Oliver et al, 2013]. Активность ферментов тирозин- и триптофан-гидроксилазы возрастает в критический период развития мозга, когда происходит интенсивный синаптогенез [Zheng et al., 2011]. Поэтому изменение уровня 5-НТ в период развития может воздействовать на многие процессы в организме [Ansorge et al., 2007]. Важную роль в регуляции уровня внеклеточного 5-НТ играет транспортер серотонина. Во взрослом мозге экспрессия SERT ограничена серотонинергическими нейронами в ядрах шва. Однако значительно большее распространение этого белка отмечается в развивающемся мозге. У грызунов в середине беременности экспрессия SERT начинается

в нейронах ядер шва, а затем распространяется на не-серотонинергические нейроны, включая таламус, гиппокамп, соматосенсорную и префронтальную кору. Временная экспрессия SERT не-серотонинергическими нейронами завершается к концу второй недели жизни грызунов. Хотя исследования на людях ограничены, существуют данные, свидетельствующие о широкой экспрессии SERT у эмбрионов человека на 8-11 неделях внутриутробного развития [Homberg et al., 2010].

Серотонин в период интенсивного развития мозга играет роль трофического фактора, поэтому изменение содержания этого медиатора, вызванное фармакологическими или стрессорными воздействиями, может приводить к необратимым морфологическим и функциональным изменениям в ЦНС [Lopes de Souza et al., 2004].

III. ПРЕПАРАТЫ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ДЕПРЕССИИ.

СЕЛЕКТИВНЫЕ ИНГИБИТОРЫ ОБРАТНОГО ЗАХВАТА СЕРОТОНИНА

Препараты для лечения депрессии подразделяются на несколько классов. Существуют трициклические антидепрессанты, ингибиторы моноаминоксидазы, ингибиторы обратного захвата серотонина и другие препараты с антидепрессивным действием.

Антидепрессанты действуют по механизму изменения в головном мозге содержания медиаторов. Они не вызывают привыкания в отличие от бензодиазепиновых транквилизаторов (феназепам, реланиум, элениум, тазепам и др.) и широко используемых в нашей стране корвалола и валокордина. Кроме того, бензодиазепиновые транквилизаторы и фенobarбитал, входящие в состав корвалола и валокордина, при длительном применении снижают чувствительность к другим психофармакологическим средствам [Мосолов, 1995].

Трициклические антидепрессанты (ТЦА, кломипрамин, имипрамин, амитриптилин и др.) получили свое название от структуры лежащего в их основе химического соединения, которое состоит из трех колец (циклов). Блокируя обратный захват двух основных биогенных аминов: норадреналина и серотонина, данная группа антидепрессантов приводит к увеличению содержания в мозгу данных медиаторов. Однако эти препараты оказывают значительное влияние и на рецепторы других нейромедиаторов (адренергические, холинергические и гистаминергические) [Hrdina, 1991]. Взаимодействие данных препаратов с другими рецепторными системами (особенно с холинергической и гистаминовой) приводит к появлению большого количества побочных эффектов и отказу от широкого использования ТЦА при лечении депрессий. При использовании этих антидепрессантов наблюдаются следующие побочные эффекты: вялость, сонливость, сухость во рту, затрудненное мочеиспускание, расстройства зрения,

сердцебиение, ортостатическая гипотензия (когда при резком вставании наступает головокружение и уходит сознание). Более редкие – кожные высыпания, усиленное потоотделение, тремор, сухость глаз и увеличение веса [Мосолов, 1995].

Ингибиторы моноаминоксидазы (ИМАО) сложнее и менее надежны в применении. Положительное влияние на состояние больного эти ингибиторы оказывают за счет подавления действия фермента моноаминоксидазы, содержащегося в нервных окончаниях. Моноаминоксидаза разрушает медиаторы – норадреналин, дофамин и серотонин, медиаторы? участвующие в регуляции эмоционального состояния. На фоне приема ИМАО эти медиаторы разрушаются меньше, их содержание увеличивается, и соответственно настроение у больного улучшается. При приеме ИМАО возможны следующие побочные эффекты: головокружение, колебание артериального давления, увеличение веса, расстройство сна, отечность конечностей.

Ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина (ИОЗСН): (венлафаксин, милнаципран, дулоксетин) селективно блокируют обратный захват НА и 5-НТ, участвующих в регуляции эмоционального состояния [Мосолов, 1995].

Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС) – современное поколение антидепрессантов, применяемых для лечения депрессий и тревожных расстройств. [Mandrioli et al., 2012; Catterson, Preskorn, 1996; Homberg et al., 2009]. Использование в клинической практике препаратов этой группы было официально разрешено в 80-х годах XX века. С тех пор СИОЗС все чаще назначают в качестве препаратов первой очереди при лечении депрессивных расстройств [Anderson et al., 2000]. Препараты этого класса проявляют свое действие путем ингибирования SERT на пресинаптической мембране. Таким образом, лечение СИОЗС приводит к увеличению концентрации 5-НТ во внеклеточном пространстве, что вызывает усиление серотониновой нейротрансмиссии и увеличение его влияния на постсинаптические рецепторы, чем и обеспечивается антидепрессивный эффект данной группы препаратов [Homberg et al., 2009]. СИОЗС лучше переносятся и менее опасны при передозировке по сравнению с другими классами антидепрессантов (ТЦА, ИМАО и др.) [Attard, 2012]. Класс СИОЗС включает флуоксетин, циталопрам, эсциталопрам, пароксетин, сертралин и флувоксамин [Mandrioli et al., 2012]. Представители этого класса антидепрессантов похожи по фармакологическому действию, однако они отличаются по фармакокинетике и влиянию на окислительные ферменты. Например, флуоксетин и пароксетин в клинически эффективных дозах ингибируют цитохром P450 CYPD6, в то время как циталопрам, сертралин и флувоксамин не оказывают такого действия [Catterson, Preskorn, 1996]. Флувоксамин является умеренным ингибитором цитохромов CYP2C19 и CYP3A4, и

мощным ингибитором CYP1A2 в печеночных микросомах [Cheer, Figgitt, 2001; Figgitt et al., 2000; Orlando et al., 2009].

Все СИОЗС хорошо всасываются после их перорального введения, 70-100% препарата достигает большого круга кровообращения. Максимальная концентрация СИОЗС в крови достигается через 4-8 часов после приема препарата [Harten, 1995; Catterson, Preskorn, 1996]. Все представители СИОЗС имеют схожий механизм действия, несмотря на различную химическую структуру [Cryan et al., 2005; Diav-Citrin et al., 2012; Olivier et al., 2011].

После резкого прекращения хронического приема антидепрессантов группы СИОЗС может развиваться синдром отмены. При этом отмечаются такие симптомы, как психомоторное возбуждение, агрессивность, раздражительность, тревожность, нарушения сна, головокружение, анорексия и др. Данные симптомы отмены препарата наблюдаются в течение 1-7 дней после прекращения приема антидепрессантов [Renoir, 2013]. Антидепрессанты с более коротким периодом полураспада, такие как пароксетин, связаны с более высоким риском синдрома отмены. Чтобы уменьшить вероятность развития синдрома отмены, резкое прекращение приема антидепрессантов не рекомендуется и прием их должен быть прекращен медленно, в течение 6 недель [Attard, 2012]. Хроническое введение СИОЗС приводит к уменьшению оборота серотонина в мозге (о чем свидетельствует снижение уровня метаболита серотонина 5-ГИУК в крови). Через 48 часов после отмены препарата оборот серотонина в мозге значительно увеличивается. Предполагается, что длительный прием СИОЗС может повлиять на функциональную устойчивость серотонинергической системы мозга, т.е. она становится более уязвима к колебаниям и внешним воздействиям [Bosker et al., 2010; Renoir, 2013].

В механизмах антидепрессантного действия СИОЗС важную роль также играет BDNF. Хроническое, но не острое применение этих препаратов за счет увеличения серотониновой нейротрансмиссии приводит к возрастанию уровня BDNF в первую очередь в зубчатой извилине и клетках гиппокампа взрослых крыс и мышей. Было показано, что хроническое введение флуоксетина ускоряет созревание и функциональную интеграцию незрелых нейронов в зубчатой извилине у новорожденных мышей дикого типа SvEv129 [Deltheil et al., 2008].

Было высказано предположение, что СИОЗС могут косвенно повлиять на дофаминовую систему [Renard et al., 2001; Muck-Seler et al., 2012]. Многочисленные исследования показали нейронные связи между дофаминергической и серотонинергической системами мозга. Например, серотонинергическая стимуляция префронтальной коры, полосатого тела и прилежащего ядра вызывает выброс дофамина

[Renard et.al., 2001]. Внеклеточный дофамин может переноситься 5-НТ нейронами и может препятствовать деятельности триптофангидроксилазы в серотонинергических терминалях полосатого тела [Muck-Seler et al., 2012]. СИОЗС, в частности флувоксамин, обладая высоким сродством к сайтам захвата серотонина, в силу своей селективности, имеют низкое сродство к сайтам поглощения норадреналина [Hiemke, Hartter, 2000; Claassen, Davies, 1977].

СИОЗС обладают высокой аффинностью к сигма-1 рецепторам в головном мозге. Накопленные данные показывают, что сигма-1 рецепторы играют немаловажную роль в познании, и патофизиологии нервно-психических заболеваний, в том числе клинической депрессии, шизофрении и наркомании. Флувоксамин действует как агонист сигма-1-рецепторов, может быть полезен при лечении перинатальной депрессии у женщин [Hashimoto, 2005; Ishima et.al., 2014].

Флуоксетин (прозак) широко используется для лечения депрессий и связанных с тревожной расстройств. Флуоксетин имеет самый длинный период полураспада и самый низкий риск развития синдрома отмены во взрослом возрасте [Lattimore et al., 2005]. С 1988 г. одобрен для лечения обсессивно-компульсивного расстройства (ОКР) у детей [Rosa-Alcazar, Iniesta-Sepulveda, 2013; Karpova et al., 2009]. Флуоксетин не противопоказан для лечения депрессий у беременных женщин [Rosa-Alcazar, Iniesta-Sepulveda, 2013; Cheer, Goa, 2001]. Многочисленными исследованиями установлено, что флуоксетин является безопасным для взрослых, однако нет гарантии безопасности его применения для лечения детей. Некоторые исследования показывают, что у подростков принимающих флуоксетин, увеличивается риск суицидального поведения [Olivier et al., 2011].

Пароксетин (паксил, рекситин) — антидепрессант с сильным противотревожным действием. Является наиболее мощным ингибитором обратного захвата серотонина из всех СИОЗС, однако обладает слабым, хотя и значительно большим, чем у других антидепрессантов группы СИОЗС, агонизмом к норадреналиновым рецепторам; также обладает малой аффинностью к дофаминергическим и гистаминовым рецепторам. Не рекомендуется для применения в педиатрической практике по причине высокого риска нежелательных клинических исходов, включая аутоагрессивное поведение, возникновение выраженной агрессивности и усиление депрессии, а также для применения во время беременности из-за опасности возникновения врождённых пороков развития [Catterson, Preskorn, 1996].

Сертралин (золофт, серлифт), подобно пароксетину, обладает антитревожным действием, но менее сильным. В отличие от других представителей СИОЗС в меньшей степени продуцирует инверсию фаз от депрессии в гипоманиакальное и маниакальное

состояние. Сертралин имеет уникальное свойство увеличивать содержание дофамина в прилежащем ядре (*nucleus accumbens*) и стриатуме, может влиять на мезолимбический путь дофамина и привести к уникальным антидепрессивным эффектам [Inoue, Honda, 2012]. Применение сертралина приводит к снижению симптомов ОКР в среднем примерно на 50%. Однако после окончания лечения возрастет количество рецидивов. В период лечения необходимо осуществлять строгий контроль поведения больных в состоянии депрессии из-за риска суицидальных попыток до тех пор, пока не наступит значительное улучшение в результате проводимого лечения [Rosa-Alcazar, Inieta-Sepulveda, 2013].

Циталопрам (опра, прам, сиозам) практически не обладает или обладает незначительной способностью к связыванию с целым рядом рецепторов, включая H1-гистаминовые, D1- и D2-дофаминовые, альфа1-, альфа2- и бета-адренергические, ГАМК, бензодиазепиновые и м-холинорецепторы. Седативный эффект отсутствует.

Флувоксамин (феварин), как и другие СИОЗС назначают в качестве препаратов первой помощи для лечения тяжелых депрессий и ряда тревожных расстройств [Figgitt et al., 2000; Omori et al., 2010]. Кроме того, флувоксамин (ФА) эффективен при лечении социальной фобии, снижая социальную и общую тревожность. По фармакологическим свойствам близок к флуоксетину, но его эффект наступает несколько быстрее. Также оказывает анксиолитическое (противотревожное) действие. Сильно и специфически замедляет обратный захват нейронами серотонина, тем самым повышая его концентрацию в синапсе и усиливая его действие; при этом мало влияя на обратный захват дофамина и норадреналина [Лопухов, 1996]. ФА не оказывает практически никакого влияния на механизмы обратного захвата других моноаминов и имеет низкое сродство к другим рецепторам нейротрансмиттеров [Figgitt et al., 2000; Orlando et al., 2009]. Основным метаболитом флувоксамина является флувоксаминовая кислота, которая не обладает антидепрессивными свойствами [Muck-Seler et al., 2012]. В мозге концентрации флувоксамина и флуоксетина в 10 раз выше, чем соответствующие уровни в крови. Таким образом, эти СИОЗС в клинически значимых концентрациях, возможно, ингибируют VMAT2 и TREK -1 [Yasumoto, Tamura, 2009].

Препарат вызывает меньше антихолинергических или сердечно-сосудистых эффектов, чем ТЦА, его использование не сопровождается увеличением веса тела, нарушением психомоторных, когнитивных или сексуальных функций [Figgitt et al., 2000].

Фармакокинетика ФА хорошо изучена. После однократного перорального введения, препарат практически полностью (>94%) всасывается из желудочно-кишечного тракта и выводится из организма в течение 48 часов [Figgitt et al., 2000; Hrdina, 1991]. Максимальная концентрация препарата в плазме достигается через 4-12 часов

(энтеросолюбильной оболочкой таблетки) или от 2 до 8 часов (капсулы, таблетки, покрытые оболочкой) [Benfield, Ward, 1986; Cheer, 2001; Orlando et al., 2009]. ФА подвергается интенсивному окислительному метаболизму в печени. Препарат выводится с мочой, преимущественно в виде метаболитов, и лишь незначительное количество около 4% в виде исходного соединения [Benfield, Ward, 1986]. Период полувыведения ФА от 12 до 15 часов после однократной пероральной дозы. Связывание ФА с белками плазмы очень низкое по сравнению с другими СИОЗС.

Препарат широко распространяется в организме, что является отражением его липофильности [Harten et al., 1995]. Объем распределения и связывания с белками плазмы крови (77%) ФА является низким по сравнению с имипрамином (85-90%), флуоксетином (95%), пароксетином (95%) и сертралином (от 98 до 99%). Абсолютная биодоступность составляет 50%. Выведение флувоксамина через грудное молоко минимально [Figgitt et al., 2000].

Прием ФА в дозе от 100 до 300 мг/сут в течение 6-10 недель значительно снижает симптомы ОКР (до 52%) по сравнению с плацебо (до 18%). Применение этого препарата в дозе 300 мг/день в течение 8 недель оказывает положительное действие при лечении социальной фобии, посттравматического стрессового расстройства (ПТСР), игромании, клептомании и других тревожных расстройств [Figgitt et al., 2000]. Эффект от приема ФА больными с тревожными расстройствами и приступами паники составлял от 47 до 81%, по сравнению с плацебо от 22 до 61%. Пациенты освобождались от приступов паники к концу лечения [Figgitt et al., 2000]. Эффекты приема ФА проявляются позже периода лечения. [Van Vliet et al., 1994]. ФА одобрен для лечения ОКР у детей и подростков с 1994 года. Отмечено, что снижение симптомов ОКР возрастает по мере увеличения дозы приема препарата [Rosa-Alcazar, Inieta-Sepulveda, 2013]. ФА в дозе от 50 до 300 мг/сут хорошо переносится детьми. Сокращение симптомов тревоги после приема ФА наблюдалось в течение 1 года у детей и подростков с ОКР [Cheer, Figgitt, 2001]. Поддерживающая терапия ФА может уменьшить вероятность рецидива у 67% пациентов с ОКР [Figgitt et al., 2000; Benfield, Ward, 1986; Mackay et al., 1997]. ФА (в дозе до 250 мг/сут у детей младше 12 лет и в дозе до 300 мг/сут у подростков от 12 до 17 лет) значительно снижает симптомы тревоги по сравнению с плацебо в течение 8 недель лечения [Cheer, Figgitt, 2001].

Побочные явления от приема ФА были временными, в легкой и умеренно тяжелой формах. При его приеме возможны побочные эффекты в виде желудочно-кишечных расстройств [Omori et al., 2010]. Тошнота была наиболее частым явлением (15,7%) другие менее распространенные побочные эффекты, такие как сонливость (6,4%) , астения

(5,1%) , головная боль (4,8%) , сухость во рту (4,8%) и бессонница (4,0%). У небольшой части пациентов ($\approx 0,4\%$) наблюдается синдром отмены через 1-4 дня после прекращения терапии флувоксамина; эти симптомы, как правило, мягкие и проходят в течение 25 дней.

Флувоксамин хорошо переносится пожилыми и больными с легкими сердечно-сосудистыми заболеваниями [Ronfeld et al., 1997]. Препарат следует применять с осторожностью у пациентов с риском развития судорог. Рекомендуемая дозировка начинается с 50 мг однократного приема дозы перед сном. В дальнейшем пациентам с ОКР повышают суточную дозу от 100 до 300 мг/день. Суточная доза ФА не должна превышать 300 мг [Figgitt, David et al., 2000; Cheer, Figgitt, 2001].

СИОЗС являются одними из наиболее широко назначаемых препаратов в психиатрии. В то время как многочисленные испытания показали безопасность СИОЗС у взрослых, краткосрочные и долговременные последствия применения этих препаратов подростками недостаточно изучены. Некоторые исследования показали, что дети и подростки на фоне приема антидепрессантов могут испытывать увеличение суицидальных мыслей и суицидального поведения, а также возбуждение, депрессию и тревогу. Тем не менее, в 2006 году ФА был утвержден для лечения умеренной и тяжелой депрессии у детей в возрасте 8 лет и старше [Homberg et al., 2011; Maciag et al., 2006 a]. Количество детей, которым назначают антидепрессанты, возросло в последнее десятилетие [Karpova et al., 2009].

3.1. ЭФФЕКТЫ ПРЕНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ СИОЗС (КЛИНИЧЕСКИЕ ДАННЫЕ)

В последние годы препаратами первой очереди при лечении депрессивных расстройств являются СИОЗС, и использование этих препаратов постоянно увеличивается. Депрессивные симптомы регистрируются у 14-23% женщин в период беременности [Yonkers et al., 2009; Marsella et al., 2010]. При лечении депрессивных расстройств у беременных и кормящих женщин чаще всего используются антидепрессанты группы СИОЗС [Marsella et al., 2010; Oberlander et al., 2006; Borue et al., 2007; Homberg et al., 2009]. В настоящее время по различным источникам от 6 до 13% женщин в период беременности принимают эти препараты [Smith et al., 2013; Haskell et al., 2013]. При этом возрастают длительность приема и суточные дозы назначаемых антидепрессантов [Tuscori et al., 2009]. Это связано с их низкой токсичностью для матери и относительной безопасности для плода по сравнению с антидепрессантами первого поколения, т.е. классическими ТЦА и ингибиторами МАО [Mandrioli et al., 2012; Mozayani, 2012]. Однако показано, что СИОЗС хорошо проникают через плацентарный барьер и регистрируются в амниотической жидкости, пуповинной крови и плазме плода

[Casper et al., 2011; Olivier et al., 2011; Nijenhuis et al., 2011; Diav-Citrin et al., 2011; Homberg et al., 2009; Lattimore et al., 2005; Ornoy et al., 2013]. Содержание антидепрессантов в пуповинной крови составляет от 70 до 86% от его содержания в крови матери для различных препаратов этой группы (для флувоксамина – 78%), следовательно, плод подвергается воздействию физиологически активных доз СИОЗС [Rampono et al., 2009]. В крови новорожденных, матери которых в течение III триместра беременности принимали СИОЗС, в течение нескольких суток после родов сохраняется значительный уровень СИОЗС. На вторые сутки содержание антидепрессантов составляет 30-60% от исходного, а для препаратов с длительным временем действия (флуоксетин) сохраняется на исходном уровне [Moses-Kolko et al., 2005]. На третьи сутки уровень препаратов – 12-65% от исходного, в случае приема флувоксамина – около 50% [Rampono et al., 2009]. Несмотря на это последствия воздействия антидепрессантов на развивающийся организм до настоящего времени недостаточно изучены. Результаты клинических исследований крайне противоречивы.

Влияние СИОЗС на исход беременности

В некоторых работах не было зарегистрировано влияния препаратов на течение и исход беременности [Gentile, Galbally, 2011; Altamura et al., 2013; Jimenez-Solem et al., 2013]. Однако существуют эпидемиологические данные, свидетельствующие о негативном влиянии СИОЗС на исход беременности. Так, показано возрастание количества спонтанных выкидышей и преждевременных родов, снижение веса новорожденных и увеличение фетальной и неонатальной летальности [Wen et al., 2006; Diav-Citrin et al., 2011; Grzeskowiak et al., 2012; Domar et al., 2013, Stephanson et al., 2013].

Исследования последствий применения СИОЗС при беременности не выявили значимой связи между приемом антидепрессантов и основными пороками развития плода [Hendrick et al., 2003]. Однако в других исследованиях было показано, что прием этих препаратов, в частности пароксетина, приводит к увеличению риска сердечно-сосудистых заболеваний у ребенка [Homberg et al., 2009; Alwan et al., 2009].

Неонатальные эффекты внутриутробного воздействия СИОЗС

Негативные последствия пренатального воздействия СИОЗС у новорожденных были отмечены многими исследователями. У новорожденных детей, матери которых в период беременности принимали антидепрессанты, отмечалось уменьшение массы тела и снижение балла по шкале Апгар, такие дети нуждались в интенсивной неонатальной терапии и более длительной госпитализации по сравнению с детьми, не подвергавшимися пренатальному воздействию СИОЗС [Casper et al., 2003; Lattimore et al., 2005; Alwan et al., 2009; Domar et al., 2013; Pedersen et al., 2013; Olivier et al., 2013].

Кроме того, у 15-30% новорожденных, подвергавшихся действию СИОЗС в течение третьего триместра развития, отмечалась нарушенная неонатальная адаптация - в первые дни жизни у детей наблюдаются нарушения дыхания, гипогликемия, гипотония, повышенная двигательная активность, нестабильная температура тела, тремор, нарушения сна, повышенная возбудимость, трудности с питанием, неумный плач, режесудороги. Указанные симптомы исчезают в течение 1-2 недель [Nordeng et al., 2001; Costei et al., 2002; Diav-Citrin et al., 2011; Ornoy et al., 2013]. В настоящее время не ясно, является ли нарушение неонатальной адаптации результатом резкого прекращения воздействия препарата после родов (синдром отмены) или результатом повышенной активности серотонинергической системы в ответ на пренатальное воздействие СИОЗС [Lattimore et al., 2005]. Синдром отмены после резкого прекращения приема антидепрессантов группы СИОЗС описан у взрослых, при этом отмечаются такие симптомы, как психомоторное возбуждение, тревожность, нарушения сна, головокружение, анорексия и др. [Renoir, 2013]. Повышенная активность серотонинергической системы у взрослых вызывает близкие симптомы. Большинство исследователей связывают нарушения неонатальной адаптации с прекращением действия препаратов [Rampono et al., 2009; Domar et al., 2013].

Некоторые эпидемиологические исследования показали связь между приемом женщинами СИОЗС во время беременности и повышением риска развития персистирующей легочной гипертензии новорожденных [Kummet et al., 2012; Nijenhuis et al., 2011; Marsella et al., 2010]. Применение антидепрессантов этой группы во второй половине беременности в 2 раза увеличивает частоту такой патологии [Kieler et al., 2012].

В других исследованиях у детей, подвергавшихся воздействию антидепрессантов данной группы в период внутриутробного развития, была отмечена задержка психомоторного развития и незначительные нарушения мелкой моторики в возрасте до 40 месяцев. Дети, подвергавшиеся воздействию СИОЗС в течение второго и/или третьего триместра внутриутробного развития, позже учились сидеть без поддержки (опоры), по сравнению с детьми, не подвергавшимися воздействию СИОЗС [Casper et al., 2011].

Клинические исследования не выявили достоверных отличий по коэффициенту интеллекта, уровню развития речи и поведению между детьми, чьи матери принимали СИОЗС в период беременности или во время кормления грудью, и детьми, не подвергавшимся воздействию антидепрессантов [Nulman et al., 1997; Nulman et al., 2002; Alwan et al., 2009].

Как уже указывалось выше, результаты клинических исследований последствий пренатального воздействия СИОЗС достаточно противоречивы. Причиной этого может быть большая неоднородность выборки беременных женщин, на которой проводилось

исследование. В одну группу включались женщины с разной тяжестью депрессии, принимавшие разные препараты группы СИОЗС в разные сроки беременности и в разных дозах [Domar et al., 2013].

Долговременные эффекты перинатального воздействия СИОЗС в клинике недостаточно исследованы [Harris et al., 2012; Rampono et al., 2001]. Все перечисленные эффекты отмечены у детей в ранний постнатальный период (в основном от рождения до 6-х месяцев). Сведения об отставленных эффектах пренатального воздействия СИОЗС ограничены, что связано с долговременностью и сложностью проведения таких исследований в клинике [Olivier et al., 2011; Harris et al., 2012].

3.2. ОСТРЫЕ И ОТСТАВЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ПЕРИНАТАЛЬНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ СИОЗС В ЭКСПЕРИМЕНТАХ НА ЖИВОТНЫХ

Отдаленные последствия воздействия препаратов группы СИОЗС на развивающийся мозг активно исследуются в экспериментах на животных, главным образом на грызунах. В то время как клинические исследования долговременных последствий пренатального воздействия СИОЗС ограничены, исследования на грызунах позволяют оценить отставленные эффекты влияния этих препаратов на развивающийся организм [Kinast et al., 2013].

Однако существуют определенные проблемы при разработке экспериментальных моделей на животных, т. к. у позвоночных сроки и продолжительность гистогенеза нервной системы и созревания системы нейротрансмиттеров могут существенно отличаться. Крысы и мыши относятся к незрелорождающимся животным, их нервная система в значительной степени созревает после рождения. Так, рост массы мозга у крыс начинается пренатально, достигает своего максимума на 5-10 ПНД и заканчивается к 21-28 ПНД. У человека увеличение массы головного мозга происходит в пренатальный период, достигает максимальных значений в период рождения и заканчивается к 30 месяцам. При этом как у человека, так и у крысы рецепторы нейромедиаторов достигают взрослого уровня к концу подросткового периода (50 ПНД у крысы, 12-17 лет у человека) [Maciag et al., 2006]. Bayer с коллегами провели сравнительные нейроанатомические исследования, сопоставляя морфологию мозга крысы с мозгом человека, и показали, что мозг эмбриона крысы на 11-21 дни сопоставим с мозгом эмбриона человека в возрасте 4-16 недель [Bayer et al., 1993]. Аналогично, мозг мыши при рождении является менее зрелым, чем при рождении у человека [Rauschecker et al., 1999]. По уровню зрелости мозг крыс на 7 день жизни сопоставим с мозгом доношенного новорожденного ребенка [Schneider et al., 2006]. Головной мозг новорожденных крысят сравним с развивающимся мозгом эмбриона человека в третьем триместре беременности [Arborelius, Eklund, 2007].

Clancy et al., 2007; Semple et al., 2013]. То есть первый и второй триместр беременности человека сопоставим с пренатальным периодом у крыс, а третий триместр – с периодом от рождения до 12-13 ПНД [Olivier et al., 2013]. Периодом развития ЦНС человека, наиболее чувствительным к действию СИОЗС, является третий триместр беременности [Casper et al., 2003]. Поскольку данные по созреванию ЦНС (в том числе 5-НТ-системы) позволяют сопоставить последний триместр беременности у человека с первыми неделями жизни крыс, то неонатальное воздействие СИОЗС в течение первых недель жизни крыс можно рассматривать как модель для изучения эффектов пренатального воздействия препаратов этой группы в течение III триместра беременности у человека [Lee, Lee, 2012; Homberg et al., 2011; Semple et al., 2013]. Фармакологические исследования с использованием таких моделей необходимы для оценки безопасности клинического применения СИОЗС во время беременности [Oh et al., 2009].

Препараты группы СИОЗС у грызунов также хорошо проходят через плацентарный барьер, как и у человека. Показано, что у крыс через плаценту проходит 69% флуоксетина, что сопоставимо с данными, полученными у беременных женщин (73%) [Olivier et al., 2013]. Многими авторами было зарегистрировано увеличение неонатальной смертности у грызунов, подвергавшихся пренатально действию СИОЗС. Также отмечалось уменьшение величины выводка, что может свидетельствовать о возрастании пренатальной смертности [Vorhees et al., 1994; Olivier et al., 2013]. Эксперименты на животных, в частности на беременных крысах и кроликах, которым вводили пароксетин, флуоксетин или сертралин в период органогенеза, не выявили значительных тератогенных эффектов препаратов [Diav-Citrin et al., 2011]. Но Noorlander и соавторы (2008) обнаружили, что большинство новорожденных мышей, подвергавшихся пренатально воздействию флуоксетина, умирали после рождения от тяжелой сердечной недостаточности, вызванной дилатационной кардиомиопатией. Аналогичные эффекты были зарегистрированы в потомстве крыс, подвергавшихся воздействию пароксетина на последней недели беременности. Наблюдалось сокращение срока беременности, снижение массы тела новорожденных крысят при рождении, и в 10 раз увеличивался риск неонатальной смертности [Klein-Schwartz et al., 2012; Kinast et al., 2013]. Пренатальное воздействие флуоксетина в дозе 0,8 мг/кг/день ухудшает рост и развитие кардиомиоцитов у грызунов, что в свою очередь приводит к изменению стенки левого желудочка сердца [Haskell et al., 2013]. Известно, что у грызунов рост и пролиферация кардиомиоцитов продолжается в течение первых 14 дней после рождения, в то время как у человека к моменту рождения рост кардиомиоцитов прекращается [Olivier et al., 2013]. Полученные данные свидетельствуют о том, что воздействие СИОЗС на ранних этапах развития приводит к нарушениям

сердечно-сосудистой системы. Кроме того, у животных, подвергавшихся пренатально воздействию СИОЗС, отмечался риск развития синдрома отмены в течение первых недель жизни [Karpova et al., 2009].

Эксперименты на крысах показали, что введение флуоксетина на поздних сроках беременности уменьшает вес новорожденных крысят [Homborg et al., 2009; Olivier et al., 2013]. Снижение веса новорожденных также наблюдалось в потомстве крыс, получавших пренатально пароксетин в дозах, эквивалентных терапевтической дозе для человека. Такие же эффекты были замечены у крыс, получавших сертралин, в терапевтических дозах [Alwan et al., 2009]. Следовательно, пренатальное введение СИОЗС грызунам приводит к снижению веса новорожденных.

Замедление соматического роста также было зарегистрировано у животных, получавших неонатально СИОЗС. Так, неонатальное введение сертралина замедляло рост новорожденных мышей, вес тела нормализовался только во взрослом возрасте [Kummet et al., 2012]. Инъекции циталопрама крысам в период с 8 по 21 ПНД приводили к значительному снижению прироста массы тела к 21 дню. Также снижение массы тела было обнаружено с 73 по 103 ПНД у крыс, получавших циталопрам в дозе 10 мг/кг, по сравнению с крысами, получавшими физиологический раствор [Harris et al., 2012]. Отставание по массе тела наблюдалось у крыс линии Wistar, получавших в раннем возрасте флуоксетин [Shinozaki et al., 2008]. В работах Karpova et al. тоже наблюдалось отставание по массе тела у мышей, получавших флуоксетин с 4 по 21 дни жизни [Karpova et al., 2009]. Известно, что серотонинергическая система играет важную роль в регуляции аппетита и потребления пищи. Препараты, увеличивающие внеклеточное содержание 5-НТ, проявляют выраженную анорексигенную активность [Halford, Blundell, 2000; Kinast et al., 2013]. Поэтому нельзя исключить, что влияние СИОЗС на изменение массы тела связано с анорексигенными эффектами 5-НТ. Однако также показано, что неонатальное введение СИОЗС приводит к развитию гиперметаболического состояния у мышей [Kummet et al., 2012]. Повышение уровня метаболизма у животных, получавших ФА, также может быть причиной замедления набора веса.

Хотя введение СИОЗС уменьшает симптомы депрессии и тревоги у взрослых мышей, неонатальное воздействие этих препаратов приводит к неадекватному поведению во взрослом состоянии. Увеличение внеклеточного уровня серотонина в перинатальном периоде может вызвать тонкие изменения в функциональности мозга и вызывать неадекватное поведение, такое как повышенная тревожность и депрессия, которые сохраняются во взрослом организме [Borue et al., 2007; Karpova et al., 2010; Muck-Seler et al., 2012]. В 1997 году Hansen с соавторами впервые показали, что введение СИОЗС

крысам с 8 по 21 ПНД приводит к увеличению времени иммобилизации в тесте принудительного плавания во взрослом возрасте, что говорит о возрастании уровня депрессивности [Hansen et al., 1997; Olivier et al., 2008]. Мыши, получавшие неонатально флуоксетин (4-21 ПНД), в дальнейшем проявляют пониженную исследовательскую активность и повышенную тревожность [Ansorge et al., 2004], а также характеризуются долговременными изменениями поведения в тестах темно-светлая камера и открытое поле [Karova et al., 2009]. Были получены данные о отставленном негативном влиянии неонатального введения флувоксамина на поведение и способность к обучению крыс [Володина, 2011]. Кроме того, неонатальное введение СИОЗС влияет на пищевое поведение животных и поведение в условиях повышенной стрессорной нагрузки [Ansorge et al., 2004], приводит к увеличению двигательной активности, снижению полового поведения [Maciag et al., 2006] и снижению агрессивности [Manhaes de Castro et al., 2001]. Изменения в социальном поведении, такие как агрессия, являются ключевыми особенностями психических расстройств. Введение СИОЗС в неонатальный период приводит к увеличению длительности быстрой фазы сна и вызывает ангедонию [Pora et al., 2008; Homberg et al., 2009].

У крыс, которым неонатально вводили СИОЗС, отмечалась задержка развития двигательных рефлексов. Так, было показано более позднее становление рефлексов у крыс, которым неонатально вводили сертралин [Deiró et al., 2006] или циталопрам [Deiró et al., 2008]. Дальнейшие исследования показали, что прием СИОЗС в неонатальный период приводит к задержке моторного развития [Lee, Lee, 2011], нарушению игрового и полового поведения у самцов крыс, снижению ориентировочно-исследовательского поведения и повышению тревожности мышей во взрослом возрасте [Rodriguez-Porcel et al., 2011; Olivier et al., 2011]. В случае пренатального воздействия СИОЗС у крыс было зарегистрировано возрастание поведения отчаяния в тесте принудительное плавание и увеличение чувствительности к действию кокаина [Homberg et al., 2009]. Пренатальное введение флуоксетина приводит к снижению игрового поведения у крыс в подростковом возрасте и нарушению социального взаимодействия у взрослых крыс [Olivier et al., 2011]. У мышей, подвергавшихся пренатально действию СИОЗС, отмечалось увеличение уровня груминга [Kinast et al., 2013].

Оценка влияния неонатального введения СИОЗС на восприятие боли показала, что инъекции флуоксетина с 1 по 21 ПНД не изменяют болевую чувствительность взрослых крыс и мышей. По другим данным, введение флуоксетина с 1 по 6 ПНД приводит к снижению болевой чувствительности у крыс в подростковом возрасте [Olivier et al., 2013].

Помимо негативных последствий перинатального воздействия СИОЗС рядом авторов зарегистрированы положительные эффекты. Так, у животных, подвергавшихся пренатально действию антидепрессантов, отмечалось снижение импульсивности, улучшение обучения в лабиринте Морриса и навыка пассивного избегания [Olivier et al., 2011]. Используя модель пренатального стресса, Ishiwata и соавт. (2005) обнаружили, что постнатальное введение флуоксетина (1-3 недели жизни) потомству мышей снижают дефицит пространственного обучения и памяти, наблюдающиеся после пренатального стресса. Кроме того, послеродовое лечение СИОЗС повышает сниженную пренатальным стрессом плотность синапсов в СА3 пирамидальных клетках гиппокампа. Поскольку способность к обучению коррелирует с плотностью синапсов в нейронах гиппокампа, эти данные показывают, что увеличение плотности синапсов сразу после введения флуоксетина являются клеточной основой для восстановления дефицита обучения, вызванной пренатальным стрессом. Вместе эти данные указывают на благоприятное влияние раннего воздействия СИОЗС на процессы обучения и памяти [Olivier et al., 2013].

Долговременные изменения поведения, зарегистрированные у животных подвергавшихся перинатальному воздействию СИОЗС, схожи с изменениями поведения у крыс с нокаутом по гену транспортера серотонина (5-НТТ/-). Для 5-НТТ/- грызунов характерно повышенная тревожность и депрессивность, снижение исследовательского и социального поведения, уменьшение болевой чувствительности, [Ansorge et al., 2004; Homberg et al., 2009; Casper et al., 2011; Olivier et al., 2013]. В мозге 5-НТТ/- животных в течение всего периода развития поддерживается высокий уровень внеклеточного серотонина. Вероятно, существует критический период в развитии мозга, где воздействие СИОЗС может привести к долгосрочным изменениям, которые отличаются от эффектов препаратов в зрелом возрасте [Bogue et al., 2007].

Перинатальное введение СИОЗС приводит к долговременным изменениям функционального состояния серотонинергической системы мозга. Так, у крыс, получавших циталопрам с 8 по 21 ПНД, в дальнейшем отмечается снижение экспрессии триптофангидроксилазы в дорзальном ядре шва и транспортера серотонина в медиальной префронтальной, первичной соматосенсорной коре [Maciag et al., 2006b] и гиппокампе взрослых крыс [Harris et al., 2012]. Пренатальное введение СИОЗС приводит не только к блокаде SERT, но и к снижению экспрессии этого белка [Kinast et al., 2013]. Пренатальное введение СИОЗС приводит к увеличению соотношения 5-ГИУК/5-ОТ в стволе мозга и коре крыс в возрасте 2 месяца, также отмечалось повышение чувствительности 5-НТ1А рецепторов и снижение плотности 5-НТ2 рецепторов [Oliver et al., 2013; Kinast et al., 2013].

Было показано, что введение крысам СИОЗС в послеродовом периоде приводит к изменению миелинизации аксонов в мозолистом теле. Поскольку мозолистое тело соединяет большие полушария мозга, то данное изменение может приводить к нарушению кортикокортикальных ассоциативных связей [Kinast et al., 2013]. Неонатальное введение флуоксетина приводит к уменьшению числа и размеров 5-НТ нейронов в ядрах шва и количества 5-НТ терминалей в гиппокампе [Mendes da Silva et al., 2010]. Введение СИОЗС с 4 по 21 ПНД приводит к снижению плотности дендритных шипиков нейронов CA1 гиппокампа у мышей в возрасте 22 дня, однако у взрослых мышей (90 ПНД), напротив, величина этого показателя превышает контрольные значения [Zheng et al., 2011]. Неонатальное воздействие СИОЗС вызывает морфологические изменения нейронов стриатума и моторной коры – было отмечено снижение длины и разветвленности дендритов и уменьшение плотности дендритных шипиков [Lee, Lee, 2012]. Воздействие флуоксетина на ранних этапах развития приводило к увеличению экспрессии BDNF у взрослых мышей, хотя у 5-НТ T-/- крыс отмечалось снижение экспрессии этого нейротрофина [Kinast et al., 2013].

Таким образом, многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что как пренатальное, так и неонатальное введение СИОЗС приводит к нарушениям физического и моторного развития, увеличению тревожности и депрессивности, нарушениям социального поведения. Такие изменения носят отставленный долговременный характер. Следовательно, изменения содержания биогенных аминов в период интенсивного развития мозга, вызванные фармакологическими или стрессорными воздействиями, могут приводить к необратимым морфологическим и функциональным изменениям в ЦНС [Lopes de Souza et al., 2004].

IV. МЕЛАНOKOРТИНОВАЯ СИСТЕМА. ПРИРОДНЫЕ И СИНТЕТИЧЕСКИЕ МЕЛАНOKOРТИНЫ

Меланокортиновая система – сигнальная система, контролирующая важнейшие физиологические процессы в организме. Эта система включает в себя природные меланокортины, меланокортиновые рецепторы и их эндогенные антагонисты [Gantz, Fong, 2003.; Starowicz, Przewlocka, 2003; Wikberg, 2001].

К природным меланокортинам (МК) относятся такие гормоны как: адренотропный гормон (АКТГ) и меланоцитстимулирующие гормоны (α -, β -, γ -МСГ), образующиеся из белка–предшественника – проопиомеланокортина (ПОМК) [Eipper, Mains, 1980]. Основной областью, в которой экспрессируется ПОМК, являются передняя и промежуточная доли гипофиза [Slominski et al., 2000]. Меланокортины

широко распространены в различных структурах ЦНС: в гипоталамусе, таламусе, среднем и продолговатом мозге, амигдале, гиппокампе, коре и спинном мозге [Gantz, Fong., 2003; Slominski et al., 2000]. Также МК обнаружены во многих периферических тканях, таких как органы кровообращения, легкие, желудочно-кишечный тракт, поджелудочная железа, почки, надпочечники, селезенка, семенники, яичники, плацента и кератиноциты и меланоциты кожи [Wikberg, 1999].

Анализ а.к. последовательности природных меланокортинов показал что α -, β -МСГ и АКТГ имеют сходную структурную последовательность: Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly (фрагмент АКТГ₄₋₁₀), которая является важной для реализации их эффектов [Starowicz, Przewlocka, 2003]. У γ -МСГ в пятом положении данной последовательности расположен Gly, а в десятом – Asp.

Меланокортиновые рецепторы принадлежат к семейству рецепторов, сопряженных с G-белками, представляют собой белки с семью трансмембранными доменами [Starowicz, Przewlocka, 2003]. Существует 5 типов МК рецепторов: МК1Р- МК5Р. Они схожи по строению, функционально связываются с аденилатциклазой и активируют цАМФ-зависимый сигнальный путь. Наиболее схожи МК4Р и МК5Р рецепторы – их структуры одинаковы на 60%. МК1Р и МК3Р по а.к. составу совпадают на 45%, а МК2Р и МК4Р – на 38% [Schioth et al., 1998]. АКТГ, α -, β -МСГ обладают высокой аффинностью ко всем видам меланокортиновых рецепторов, кроме 2 типа рецепторов. Самый короткий природный пептид, обладающий сродством к МКР– АКТГ₄₋₁₀ [Wikberg et al., 2000].

4.1. ЭКСТРАГОРМОНАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ МЕЛАНКОРТИНОВ.

Наряду со способностью регулировать пигментацию кожи и выброс корой надпочечников стероидных гормонов МК способны оказывают эффекты, которые являются результатом негормонального действия этих пептидов на ЦНС. Меланокортины могут влиять на обучение и память [Mirsky et al., 1953], участвуют в регуляции пищевого поведения [Vergoni et al., 1986; 1990] и воспалительного процесса [Lipton et al., 2000; Daynes et al., 1987; Rheins et al., 1989]. Меланокортиновая система регулирует эмоциональное состояние и реакцию организма на воздействие стресса [Chaki et al., 2003], играет важную роль в ноцицепции [Walker et al., 1981; Li et al., 1990].

У животных, получавших АКТГ/МСГ-подобные пептиды в раннем онтогенезе, происходит ускорение созревания нервно-мышечной системы [Strand et al., 1989]. Инъекции МК влияют на развитие центральной нервной системы, а именно, отмечается снижение уровня тревожности и улучшение обучения [Acker et al., 1985; Nyakas et al., 1981]. Инъекции АКТГ₄₋₁₀ в неонатальный период повышают уровень катехоламинов:

дофамина, норадреналина и их метаболитов в гиппокампе и стволе мозга [Шилова и др., 1996; 1998 а.; 2000].

Такой широкий спектр свойств меланокортинов предполагает возможность их использование в качестве лекарственных препаратов в клинике при различных патологиях [Starowicz, Przewlocka, 2003; Cone, 2005].

4.2. АНАЛОГ АКТГ₄₋₁₀ СЕМАКС

Серьезным препятствием для использования в клинике является малая продолжительность эффектов природных меланокортинов. Это связано с их быстрым распадом в организме под действием ферментов. Для создания лекарств на основе меланокортинов необходимо было разработать их синтетические аналоги с природной активностью пептидов, но с высокой устойчивостью к действию протеаз. В результате многолетних исследований был разработан аналог АКТГ₄₋₁₀ пролонгированного действия – семакс, включающий в себя фрагмент АКТГ₄₋₇ и трипептид Pro-Gly-Pro [Пономарева-Степная и др., 1984]. Семакс используется в клинике более 20 лет в качестве ноотропного и нейропротекторного средства. Клинические исследования показали высокую эффективность семакса при лечении интеллектуально-мнестических расстройств и астенических состояний различного генеза, а также при профилактике и лечении инсульта.

Семакс обладает комплексом положительных ноотропных эффектов на ЦНС: улучшает обучение животных в моделях как с положительным, так и с отрицательным подкреплением. Улучшает консолидацию памяти и избирательное внимание в момент восприятия информации [Ашмарин и др., 1997; Ashmarin et al., 1995]. И при внутрибрюшинном (в/б) и при интраназальном (и/н) введении семакса наблюдаются ноотропные эффекты препарата [Левицкая и др., 2008]. Наиболее эффективные дозы для улучшения обучения при в/б введении 0.015 и 0.05 мг/кг веса. При и/н введении достоверное улучшение обучения животных было зарегистрировано при более низких дозах 0.0015, 0.015 и 0.05 мг/кг, что свидетельствует о более высокой эффективности семакса при и/н введении [Левицкая и др., 2008].

В экспериментальных моделях было показано, что в случае животных с исходно высокими уровнем тревожности и степенью депрессивности, введение семакса приводило к значимому снижению этих показателей. В том случае, когда депрессивное поведение в контрольной группе животных было менее выражено, инъекция пептида не приводила к достоверному изменению показателей. Введение семакса также ослабляло повышение тревожности и депрессивности, вызванное введением холецистокинина-4 [Левицкая и др., 2010].

Семакс обладает нейротрофическими эффектами, повышая содержание BDNF в мозге животных [Dolotov et al., 2006]. Возрастание экспрессии BDNF в гиппокампе может лежать в основе антидепрессантного действия семакса, т.к. показана важная роль этого нейротрофического фактора в регуляции уровня тревожности и депрессивности [Duman et. al., 2000].

Система биогенных аминов играет важную роль в процессах обучения и памяти. Введение семакса повышает активность данной системы, что может обеспечивать улучшение внимания, выделения значимых стимулов, что приводит к ускорению обучения [Левицкая и др., 2008]. Показано, что однократное в/б введение семакса в дозах 0.15 и 0.6 мг/кг увеличивает содержание серотонина и его метаболита 5-ГИУК в стриатуме в течение 2-х часов после введения. Это является свидетельством ускорения оборота серотонина и увеличения функциональной активности серотонинергической системы мозга [Еремин и др., 2002; Eremin et al., 2005].

4.2.1. Эффекты неонатального введения семакса.

Много исследований посвящено изучению поведения крыс, получавших семакс в различные периоды неонатального развития. Так в/б введение пептида в дозе 0.05 мг/кг в течение первой недели жизни вызывало снижение, а в течение второй или второй-третьей недель жизни – увеличение исследовательской активности животных, также не было зарегистрировано достоверного изменения показателей физического развития и болевой чувствительности. При этом у крыс, получавших пептид в течение 2-х недель, изменения в поведении ко 2-му месяцу жизни усиливались, по сравнению с менее выраженными отставленными эффектами от введения семакса в течение 7 дней. Т.е. отставленные изменения в исследовательском поведении крыс определялись длительностью его хронического неонатального введения [Себенцова и др., 2005]. Хроническое введение семакса в течение первых трех недель постнатального развития приводит к снижению тревожности и улучшению способности крыс к обучению. Так, животные, получавшие семакс в неонатальном периоде, отличались более низким уровнем тревожности и улучшение выработки реакции пассивного избегания болевого раздражителя. Также введение пептида животных в течение 1-2 недель постнатального развития приводит к ускорению обучения с пищевым подкреплением. Изменения поведения в различных тестах регистрируются через 2-7 недель после последней инъекции пептида, т. е. носят отставленный долговременный характер [Себенцова и др., 2005].

Увеличение исследовательской активности, снижение уровня тревожности и улучшение обучения свидетельствуют о влиянии пептида на развитие адаптивного поведения у крыс. Показано также, что неонатальное введение семакса с 7 по 11 день

жизни приводит к усилению нейрогенеза в зубчатой извилине гиппокампа крыс в возрасте 1 месяца [Тимошенко и др., 2009]. Исследования, проведенные на мышах различных линий, показало, что подкожные инъекции семакса со 2 по 7 день жизни, в возрасте 3-4 месяцев вызывают отставленное повышение болевого порога по сравнению с животными, получавшими растворитель [Бояршинова и др., 2004].

Таким образом, многочисленные данные свидетельствуют о том, что неонатальное введение семакса оказывает нейротрофическое модулирующее воздействие на развивающийся мозг.

4.2.2. Коррекция семаксом негативных последствий неонатального стресса.

Эффекты неонатального введения семакса детенышам белых крыс и мышей позволяют предположить возможность влияния пептида на последствия стресса, перенесенного в неонатальном возрасте. Неонатальный стресс вызывает долговременные отставленные изменения адаптивного поведения животных: повышение тревожности, нарушение обучения и другие [Huot et al., 2002; Nyakas et al., 1981]. Неонатальным стрессогенным воздействием также являются такие экспериментальные манипуляции во время введения препаратов, как взятие в руки, отлучение от матери, болевая стимуляция при в/б инъекциях. Показано, что ежедневные в/б инъекции растворителя детенышам белых крыс в течение первых 2-3 недель жизни приводят к отставленному снижению исследовательского поведения во взрослом возрасте и увеличению тревожности по сравнению с интактным контролем [Левицкая и др., 2008].

Показано, что при хроническом неонатальном в/б введении семакса проявляются более выраженные эффекты, чем при его неонатальном и/н введении. Это связано с тем, что крысята при различных способах введения подвергаются разным уровням стрессорной нагрузки. Болевая стимуляция в неонатальный период является стрессогенным фактором, в дальнейшем вызывает долговременные изменения поведения животных, такие как снижение исследовательского поведения и увеличение тревожности [Шилова и др., 2004; Левицкая и др., 2008]. Эти изменения, вызванные неонатальной болевой стимуляцией, в значительной степени нормализуются после неонатального введения семакса. Поэтому, одним из механизмов эффектов неонатального введения семакса может быть ослабление негативных последствий стресса, которым подвергались животные во время экспериментальных манипуляций [Шилова и др., 2004; Себенцова и др., 2005; Левицкая и др., 2008].

Неонатальная изоляция (НИ) у грызунов (долговременное отлучение от матери и сибсов) является моделью неонатального стресса и вызывает долговременные негативные эффекты. Ранее в нашей лаборатории было показано, что ежедневная НИ на 5 часов в день

в течение 1-2 недель жизни крыс влияет на развитие и вызывает отставленные изменения поведения крыс. У животных, перенесших НИ, отмечается задержка соматического роста, гиперактивность, повышенная эмоциональность и тревожность в возрасте 1 месяца. Использованное стрессогенное воздействие также приводит к нарушению метаболических процессов и снижению стресс-вызванного выброса кортикостерона. Указанные изменения наблюдаются в течение 1-2 месяцев жизни, т.е. носят отставленный долговременный характер. Хроническое интраназальное введение семакса после завершения процедуры неонатальной изоляции ослабляет негативное влияние неонатального стресса на физическое развитие животных, эмоциональное состояние и метаболические процессы, а также нормализует гормональный ответ на острый стресс. Было высказано предположение, что в основе корректирующего влияния семакса на последствия НИ лежит изменение активности системы моноаминов в мозге животных, перенесших неонатальный стресс [Володина и др., 2011, 2012].

Таким образом, на сегодняшний день проведено большое число исследований, посвященных изучению отставленных эффектов перинатального введения СИОЗС. Было показано, что хронические инъекции препаратов этой группы в период активного развития мозга приводят к долговременным изменениям поведения животных. Однако, несмотря на многочисленные исследования, сведения об отставленных эффектах перинатального воздействия СИОЗС достаточно противоречивы, последствия неонатального введения флувоксамина практически не исследованы. В литературе отсутствуют сведения по изучению возможных путей коррекции негативных последствий перинатального воздействия СИОЗС. Исследование долговременных последствий влияния антидепрессантов этой группы на развивающийся мозг и поиск методов их коррекции являются актуальной проблемой современной медицины и физиологии.

На сегодняшний день семакс используется в клинике уже более 20 лет. Разработанные на основе этого пептида лекарственные препараты применяют в качестве ноотропного и нейропротекторного средств. Данные об эффектах неонатального введения семакса детенышам белых крыс и мышей, полученные ранее, позволяют предположить возможность влияния семакса на последствия неонатального введения СИОЗС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проводилась на белых беспородных крысах обоего пола. Всего в работе было использовано 286 крыс из 30 выводков. Животных содержали в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде и соблюдением 12 часового светового режима дня (искусственное освещение с 9 до 21 часа). Крысята каждого выводка содержались в отдельной клетке вместе с матерью до достижения ими месячного возраста, после чего крысят отсаживали от матери. Начиная с 45-ого дня жизни, самцов и самок содержали отдельно.

Для инъекций в экспериментах использовали водный раствор флувоксамина малеата фирмы Sigma и водный раствор гептапептида Семакс (Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro), синтезированного в Секторе регуляторных пептидов Института молекулярной генетики РАН. Флувоксамин вводился внутривентрикулярно (в/в) в дозе 10 мг/кг веса (в объеме 2 мл/кг веса). Семакс вводили интраназально (и/н) в дозе 0.05 мг/кг, в водном растворе из расчета 1 мкл/10 г массы тела. Контрольным животным вводили эквивалентный объем воды для инъекций в соответствующие сроки.

I. СХЕМА ЭКСПЕРИМЕНТА

В работе изучались отставленные эффекты хронического неонатального введения ингибитора обратного захвата серотонина флувоксамина и влияние последующего введения семакса на эффекты флувоксамина. День рождения крысят принимали за 0-вой день жизни, в первый день жизни каждый выводок делили на группы.

В первой серии было использовано 55 крысят из 5 выводков. Каждый выводок делили на 3 группы: контроль (“КОН”), интактный контроль (“ИК”) и флувоксамин (“ФА”). С 1 по 14 день жизни крысятам группы “ФА” ежедневно в/б вводили флувоксамин в дозе 10 мг/кг, крысятам группы “КОН” - эквивалентный объем воды для инъекций. Животные группы “ИК” не получали никаких инъекций. В возрасте 16 дней животных декапитировали.

Во второй серии экспериментов было использовано 183 крысенок из 20 выводков. Каждый выводок делили на 3 группы: “КОН”, “ФА” и “ФА-Сем”. С 1 по 14 день жизни крысятам группы “ФА” и “ФА-Сем” ежедневно в/б вводили раствор флувоксамина в дозе 10 мг/кг, крысятам группы “КОН” - эквивалентный объем воды для инъекций. С 15 по 28 ПНД животные группы “ФА-Сем” ежедневно получали и/н инъекции семакса в дозе 0.05 мг/кг веса, животные групп “КОН” и “ФА” получали и/н инъекции воды.

В третьей серии экспериментов было использовано 48 крысят из 5 выводков. Каждый выводок делили на 3 группы: “КОН”, “ИК” и семакс (“Сем”). В течение первых двух недель жизни крысятами групп “КОН” и “Сем” в/б вводили воду для инъекций в

объеме 2 мл/кг веса. С 15 по 28 день жизни животные группы “Сем” ежедневно получали и/н инъекции семакса в дозе 0.05 мг/кг, животные групп “КОН” в тот же период получали и/н инъекции эквивалентного объема воды. Крысята группы “ИК” не получали никаких инъекций.

Схема экспериментальных манипуляций в течение первого месяца жизни крысят в разных группах представлена в таблице 1.

Таблица 1. Схема введения препаратов

группа	1-2 недели жизни	3-4 недели жизни
ИК	-	-
КОН	1-14 ПНД в/б вода	15-28 ПНД и/н вода
ФА	1-14 ПНД в/б флувоксамин	15-28 ПНД и/н вода
Сем	1-14 ПНД в/б вода	15-28 ПНД и/н семакс
ФА-Сем	1-14 ПНД в/б флувоксамин	15-28 ПНД и/н семакс

Для оценки физического развития крысят регистрировали возраст открытия глаз и проводили взвешивания в течение первого месяца жизни – ежедневно, в течение второго – один раз в неделю.

В возрасте 16, 32 или 63 ПНД часть крыс декапитировали, извлекали головной мозг и выделяли 4 структуры: фронтальную кору, гипоталамус, стриатум и гиппокамп. Образцы мозга немедленно замораживали путем погружения в жидкий азот и далее в Институте фармакологии РАМН методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) определяли содержание биогенных аминов: серотонина (5-НТ), норадреналина (НА), дофамина (ДА) и их кислых метаболитов 5-гидроксииндолилуксусной кислоты (5-ГИУК), 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты (ДОФУК) и гомованилиновой кислоты (ГВК) в структурах мозга.

Для оценки поведенческих эффектов использованных воздействий был использован набор поведенческих тестов. Оценку параметров поведения крысят проводили в соответствии со следующим временным графиком:

- “рефлекс переворота со спины на лапы” 6 день;
- “рефлекс ползания” 10 день;
- тест “отрицательный геотаксис” 12 день;
- тест “Вертикальный стержень” 16 день;
- тест “Открытое поле” (бесстрессорная модификация) 30 день;

- тест “Приподнятый крестообразный лабиринт”-I.....31 день;
- тест “Вращающийся стержень – Rota-Rod”33 день;
- выработка условной реакции пассивного избегания*34 и 37 дни,
- обучение в сложном пищевом лабиринте*42 по 46 дни;
- проверка сохранения навыка*53 день;
- оценка пищевой мотивации*49 день;
- тест “принудительное плавание”*55 день;
- тест “предпочтение сахарозы”*57-58 день;
- тест “Приподнятый крестообразный лабиринт”-II*60 день;
- тест “О-образный лабиринт”*61 день;
- тест “Открытое поле” (стрессогенная модификация) *62 день.

*- тест проводился только в серии 2.

II. МЕТОДЫ ТЕСТИРОВАНИЯ

ОЦЕНКА УРОВНЯ ПСИХОМОТОРНОГО РАЗВИТИЯ И ФИЗИЧЕСКОЙ ВЫНОСЛИВОСТИ КРЫСЯТ

Тест “Рефлекс переворота со спины на лапы”

Крысенка помещают в положении лежа на спину и засекают время, за которое животное переворачивалось в нормальное положение. Максимальное время регистрации 30 сек. Полное приобретение рефлекса предполагает переворот животного на 180° вокруг своей продольной оси.

Тест “Рефлекс ползания”

Крысенка помещают в центр круга из белой бумаги диаметром 13 см и регистрируют время, за которое крысенок выползет из этого круга всеми 4 лапами. Максимальное время тестирования - 120 с.

Тест “Отрицательный геотаксис”

Крысенка помещают на середину наклонной пластинки (угол наклона 45 градусов) длиной 30 см, головой по направлению склона. Записывают время, за которое животное поворачивается в направлении вверх по склону и забирается к верхушке наклонной пластинки. Максимальное время тестирования - 120 с.

Тест “Вертикальный стержень”

Крысенка сажают на деревянный вертикальный стержень с неровной поверхностью, установленный на уровне 50 см над мягкой подстилкой. Регистрируют время удержания крысенка на вертикальном стержне. Максимальное время тестирования 120 секунд. Производится по 2 посадки животного с интервалом в 10 минут.

Тест “Вращающийся стержень – Rota-Rode”

Аппарат "Rota-Rode" (фирма “Columbus Instruments”) включает в себя движущийся барабан диаметром 90 мм с рифленой поверхностью. Перед тестированием производится адаптация к “вращающемуся стержню”. Для этого животное 3 раза с интервалом в 1 минуту помещается на барабан при скорости вращения 4 об/мин. Длительность адаптации в каждой попытке – 30 сек. При тестировании животное помещается на барабан, затем производится обнуление счетчика времени и включается вращение на 4 об/мин с ускорением 0,2 об/мин/сек. Максимальное время тестирования 3 мин. Производится 3 посадки на барабан с интервалом 1 мин. Регистрируется время удержания на барабане при каждой попытке (первой, второй и третьей), а также подсчитывается среднее время удержания по всем попыткам.

ОЦЕНКА ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ, ОРИЕНТИРОВОЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ПОВЕДЕНИЯ И ТРЕВОЖНО-ФОБИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ КРЫС.

Тест “Открытое поле”

“Открытое поле” представляет собой круглую пластиковую арену диаметром 100 см с высокими стенками (42 см) и полом, расчерченным двумя concentрическими окружностями и отрезками прямых, делящими его на 19 равных по площади секторов. Над ареной на высоте 80 см помещена красная лампа мощностью 15 Вт, лампа накаливания мощностью 100 Вт и электрический звонок. При тестировании животное помещали в центр арены и в течение 2-х минут визуально оценивали следующие показатели:

- горизонтальную двигательную активность (пробег) - количество пройденных секторов,
- вертикальную двигательную активность (стойки) - число подъемов на задние лапы,
- количество отходов от стенки арены - число пересечений внешней concentрической окружности,
- количество выходов в центр арены - число пересечений внутренней concentрической окружности,
- количество умываний (груминг)- число касаний морды передними лапами.

Эксперимент проводился в двух модификациях - в тишине и при свете красной лампы (бесстрессорная модификация) или при ярком освещении и звуке электрического звонка интенсивностью 80-100 дБ (стрессогенная модификация).

Тест “Приподнятый крестообразный лабиринт”

Экспериментальная камера лабиринта состоит из четырех расходящихся из центра рукавов (длина рукавов - 50 см, ширина – 15 см, высота стенок – 30 см). Два противоположных рукава закрыты с торцов стенками; два других – открыты. Лабиринт устанавливается на высоте 55 см от пола. Крысу помещали в центр лабиринта и в течение 3-х минут регистрировали следующие показатели:

- латентный период первого захода в закрытый отсек;
- общее время нахождения на открытых рукавах;
- количество выходов из закрытых рукавов;
- количество выходов на открытые рукава;
- количество свешиваний с открытых рукавов;
- количество выглядываний из закрытых рукавов;
- вертикальную двигательную активность (стойки) – число подъемов на задние лапы;
- количество умываний (груминг) – число касаний морды передними лапами.

Эксперимент проводился в двух модификациях: (1) – при однородном слабом освещении (низкая стрессорная нагрузка; открытые рукава – 44-50 лк (люкс), закрытые рукава – 18-20 лк); (2) - закрытые рукава затемнены, открытые – ярко освещены (высокая стрессорная нагрузка; открытые рукава – 460 лк, закрытые рукава – 8 лк).

Тест “О-образный лабиринт”

Экспериментальная камера лабиринта представляет собой кольцо, внешний диаметр которого равен 105 см, а ширина дорожки лабиринта составляет 10 см. Камера разделена на 4 равных сектора. Два противоположных сектора оснащены стенками высотой 27 см. Лабиринт устанавливают на высоте 70 см от пола. Крысу помещали в один из закрытых рукавов лабиринта и в течение 5 минут регистрировали следующие показатели:

- латентный период выхода из закрытого сектора;
- общее время нахождения на открытых секторах;
- время нахождения в каждом из закрытых секторов;
- количество выходов на открытый сектор, количество заходов в закрытый сектор, противоположный исходному;
- количество выглядываний из закрытого сектора;
- количество свешиваний с открытого сектора и из закрытого сектора;
- вертикальную двигательную активность (стойки);
- количество умываний (груминг) - число касаний морды передними лапами.

ОЦЕНКА СПОСОБНОСТИ ЖИВОТНЫХ К ОБУЧЕНИЮ

Выработка условного рефлекса пассивного избегания болевого раздражителя (УРПИ)

Обучение проводилось в экспериментальной камере (размер 30х22х35 см), разделенной перегородкой с отверстием на два отсека: один - ярко освещенный, другой - затемненный. Камера устанавливалась на решетчатый металлический пол, подсоединенный к источнику тока. В первый день эксперимента животное помещали в освещенный отсек камеры и регистрировали время перехода в темный отсек, в котором крысу подвергали неизбежному удару электрическим током со стимулятора ЭСЛ-2 в течение 3 секунд. Напряжение подбиралось индивидуально для каждого животного в диапазоне 60-90 В (до реакции вокализации).

Через 72 часа проводили проверку выработки навыка пассивного избегания болевого раздражителя. Животное на 3 минуты помещали в светлый отсек камеры и регистрировали латентный период перехода в темный отсек, суммарное время, проведенное в светлом отсеке, число стоек и умываний в светлом отсеке.

Через неделю после обучения крыс, которые при проверке выработки навыка не заходили в темный отсек, повторно помещали в камеру для проверки сохранения навыка. Регистрировали те же показатели, что при проверке выработки навыка.

Выработка условного пищедобывательного рефлекса на место (сложный лабиринт)

Сложный лабиринт представляет собой квадратную камеру, разделенную пятью прозрачными перегородками на 6 коридоров. В каждой перегородке имелось прямоугольное отверстие. Перед экспериментом животных подвергали 24-часовой пищевой депривации.

1. Адаптация. В первый день эксперимента крыс помещали в лабиринт на 30 мин с целью адаптации и угашения ориентировочно-исследовательской реакции.

2. Обучение. В последующие 4 дня животных ежедневно помещали в лабиринт по 5 раз подряд, причем длительность каждой посадки не превышала 3-х минут. Крысу помещали в стартовый отсек, после чего визуально регистрировали следующие показатели: число выполненных реакций (число случаев, когда животное находит пищевое подкрепление в течение 3-х минут пребывания в лабиринте); количество ошибок (число любых отклонений от правильной траектории движения); время реакции, а также число “стоек” и “умываний”. В дни опыта животных кормили один раз в сутки непосредственно после эксперимента.

3. Проверка сохранения навыка. Через неделю после 4-го дня обучения животных повторно помещали в лабиринт. Регистрировали те же параметры, что и во время обучения.

ОЦЕНКА ВЫРАЖЕННОСТИ ДЕПРЕССИВНЫХ СОСТАВЛЯЮЩИХ ПОВЕДЕНИЯ

Тест “Принудительное плавание”.

Крысу помещали в пластиковый цилиндр, заполненный на 2/3 водой (температурой 28-29° С) и в течение 10 мин регистрировали следующие параметры поведения:

- суммарную длительность активного плавания (крыса совершает активные плавательные движения, перемещаясь внутри емкости);
- длительность клайминга (животное карабкается по стенке сосуда);
- длительность иммобилизации (животное неподвижно, движения совершаются только для поддержания тела на поверхности воды).
- число периодов активного плавания, клайминга, иммобилизации;
- латентный период первой иммобилизации.

Использовали цилиндры двух видов – (1) высотой 40 см и диаметром 20 см; (2) – высотой 40 см и диаметром 35 см.

Тест “Предпочтение сахарозы”

Измерение предпочтения сахарозы проводили согласно стандартной методике (Gronli et.al., 2005) с модификациями. Крысам в индивидуальных клетках (37*20*15 см) на ночь (18 ч) предоставляли свободный доступ к двум предварительно взвешенным идентичным шариковым поилкам (250 мл), одна из которых содержала питьевую воду, вторая – 1% раствор сахарозы в питьевой воде. На следующие сутки поилки взвешивали и определяли количество потребленных жидкостей. Предпочтение сахарозы определяли как отношение массы потребленного раствора сахарозы к суммарной массе выпитой жидкости.

ОЦЕНКА УРОВНЯ ПИЩЕВОЙ МОТИВАЦИИ И СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКОЗЫ В КРОВИ

Крыс подвергали 20-часовой пищевой депривации перед началом тестирования. С помощью глюкометра измеряли уровень глюкозы в крови. Через 30 минут после измерения уровня глюкозы крысу на 5 минут помещали в клетку для адаптации к новым условиям. После 5 минутной адаптации в клетку помещали чашку Петри с хлебом. В течение 10 минут регистрировали следующие показатели:

- латентный период подхода к чашке;
- латентный период начала приема пищи;
- общее число подходов к чашке;

- количество актов приема пищи;
- массу съеденной пищи;
- общее время потребления пищи.

Количество съеденной пищи определяли путем взвешивания чашки с кормом до и после тестирования. Затем крысу на 30 минут помещали в клетку со свободным доступом к пище. Через 30 минут проводили повторное измерение уровня глюкозы. После измерения крысу на 120 минут помещали в клетку без доступа к пище. Через 120 минут проводили третье измерение уровня глюкозы в крови.

III. СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ДАННЫХ

Обработка результатов производилась с помощью пакета статистических программ "Statistica 8". Определялись внутригрупповые средние и разбросы. Отличия между группами оценивались с помощью методов ANOVA-MANOVA, а также непараметрических критериев Вилкоксона Манна-Уитни, Фишера и χ^2 . Данные на рисунках представлены в виде среднего $\pm$ стандартная ошибка среднего. Отличия считали достоверными при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

ГЛАВА 1. ОСТРЫЕ ЭФФЕКТЫ ХРОНИЧЕСКОГО НЕОНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ФЛУВОКСАМИНА С 1-ГО ПО 14-Й ДНИ ЖИЗНИ КРЫС

В первой части работы исследовали влияние хронического неонатального в/б введения флувоксамина на уровень летальности, физическое и моторное развитие, состояние серотонинергической системы у детенышей белых крыс в возрасте 1 – 16 ПНД. Эксперименты проводились на животных обоего пола. Было проведено 2 серии экспериментов. В первой серии экспериментов крысят каждого выводка делили на 3 группы – интактный контроль (“ИК”), контроль (“КОН”) и флувоксамин (“ФА”). Группа “ИК” была необходима для оценки влияния ежедневных экспериментальных манипуляций на регистрируемые нами параметры. Так как проведенные в первой серии эксперименты не выявили отличий между группами “ИК” и “КОН”, во второй серии экспериментов для сокращения количества используемых животных каждый выводок делили на две группы – “КОН” и “ФА”.

- 1) “ИК” – с 1 по 16 ПНД крыс регулярно взвешивали.
- 2) “КОН” – крысы с 1 по 14 ПНД получали в/б инъекции дистиллированной воды.
- 3) “ФА” – крысы с 1 по 14 ПНД получали в/б инъекции флувоксамина.

1.1. Оценка показателей физического развития крыс.

В ходе экспериментов во всех группах животных регистрировали время открытия глаз и изменение массы тела, а также оценивали выживаемость животных в группах.

1.1.1. Влияние неонатального введения флувоксамина на выживаемость животных.

В ходе экспериментов проводилась оценка уровня летальности животных в экспериментальных группах. Показано, что в группе “ИК” к 16 ПНД выжило 100% крыс, в группе “КОН” выживаемость составила 95,1 %, а в группе “ФА” – 85.5% от исходного количества животных в группах (рис. 1). Таким образом, ежедневные внутрибрюшинные инъекции растворителя приводили к увеличению летальности крыс в группе “КОН”, однако достоверных отличий от интактного контроля отмечено не было ($p > 0.20$). Хроническое неонатальное введение ФА с 1 по 14 ПНД приводило к достоверному увеличению уровня летальности относительно контроля ($p < 0.03$).

1.1.2. Влияние неонатального введения флувоксамина на возраст открытия глаз.

Одним из показателей физического развития крыс является возраст открытия глаз. Оценка влияния неонатального введения флувоксамина показала отсутствие достоверного влияния фактора пол ($F_{1,193}=2.73$, $p > 0.10$) и значимое влияние фактора группа на величину этого показателя ($F_{2,193}=3.57$, $p < 0.03$).

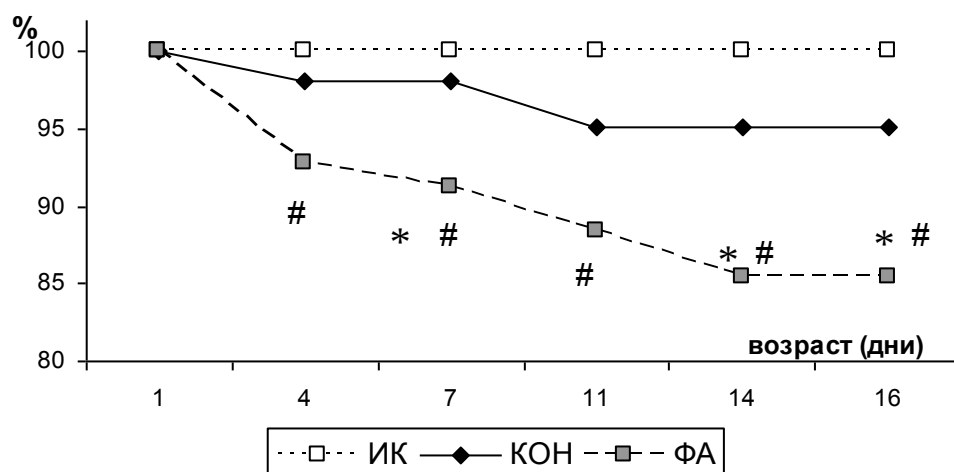


Рис. 1. Оценка уровня летальности. По оси абсцисс – возраст крыс, по оси ординат – число выживших животных в % к исходному количеству крыс в группе. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД. Исходное число животных в группе: n (ИК)=34; n (КОН)=90; n (ФА)=88. Значимые отличия от контроля ($p<0.05$) отмечены *, от группы “ИК” ($p<0.05$) – #.

Дальнейший анализ показал, что в группе “ФА” наблюдается незначительное, но достоверное снижение возраста открытия глаз относительно групп “ИК” и “КОН” (рис. 2). В группе “ФА” к 16 дню жизни глаза были открыты у 86.3% животных, в то время как в контроле и в группе “ИК” этот показатель составил 70.7 и 67.6%, соответственно ($p<0.03$). Т.о., у крысят, получавших инъекции флувоксамина, глаза открывались раньше, чем у крысят групп контроль и интактный контроль.

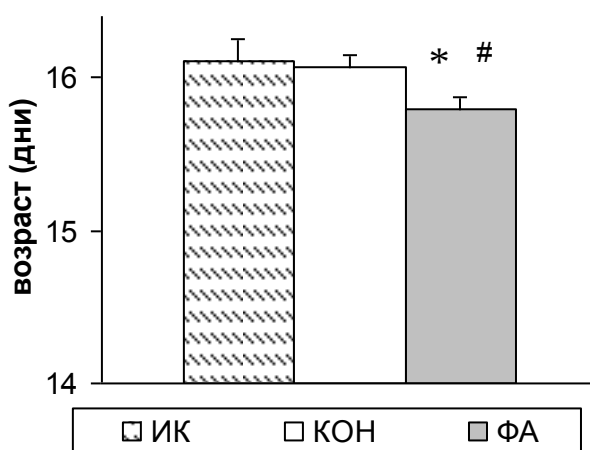


Рис. 2. Влияние флувоксамина на возраст открытия глаз. По оси ординат – возраст крыс (дни жизни). Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД. Число животных в группе: n (ИК)=34; n (КОН)=86; n (ФА)=75. Значимое отличие от контроля ($p<0.05$) отмечено *; от группы “ИК” ($p<0.05$) – #.

1.1.3. Влияние неонатального введения флувоксамина на изменение массы тела крыс

Измерение массы тела новорожденных крысят выявило достоверные отличия между крысами контрольных групп в первой и второй сериях экспериментов (6.14 ± 0.13 и 6.50 ± 0.08 г., $p < 0.01$), исходных отличий между группами “ФА” и “ИК” и соответствующими им контрольными группами отмечено не было. На рис. 3 представлено изменение массы тела крыс в группах “ФА” и “ИК” по сравнению с соответствующими контрольными группами.

Во всех экспериментальных группах наблюдалось увеличение массы тела с 1-го по 16 ПНД ($F_{15,2325}=4058.8$; $p < 0.001$ и $F_{15,930}=1557$; $p < 0.001$, для рис. 3А и 3Б, соответственно). Фактор пол не оказывал достоверного влияния на массу тела крыс в первой и второй сериях экспериментов ($F_{1,62}=0.70$; $p > 0.40$ и $F_{1,155}=0.10$; $p > 0.80$, соответственно). При сравнении групп “ИК” и “КОН” не было выявлено значимого влияния фактора группа на изменение массы тела крыс ($F_{1,62}=0.01$; $p < 0.98$).

В случае групп “КОН” и “ФА” отмечалось значимое влияние фактора группа на изменение массы тела ($F_{1,155}=4.1$; $p < 0.04$). С 6-го дня жизни у крысят группы “ФА” масса тела была достоверно ниже, чем в контрольной группе (рис. 3Б).

Следовательно, ежедневные в/б инъекции растворителя с 1 по 14 ПНД не влияли на прирост массы тела, в то время как введение ФА в те же сроки приводило к достоверному замедлению роста животных.

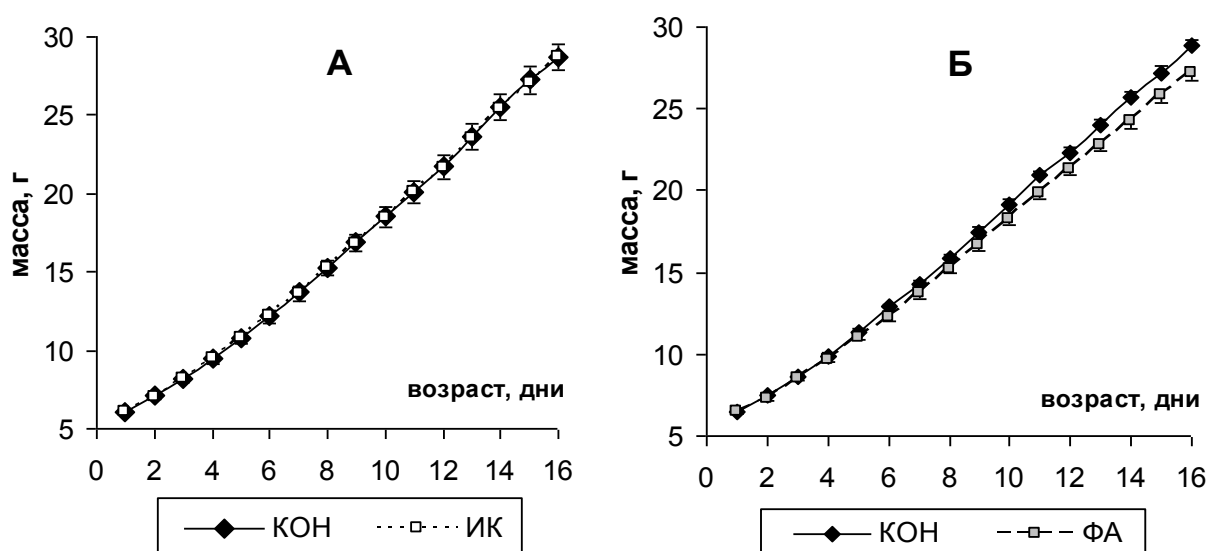


Рис. 3. Влияние неонатального введения флувоксамина на изменение массы тела крыс. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД. По оси абсцисс – возраст крыс, по оси ординат – масса тела. Число животных в группе: а – n (ИК)=33, n (КОН-14)=33; б – n (КОН-14)=86, n (ФА-14)=75.

1.1.4. Влияние неонатального введения флувоксамина на развитие двигательных функций

Для оценки физического развития крысят изучали становление моторных рефлексов в тестах “рефлекс переворота”, “рефлекс ползания”, “рефлекс отрицательного геотаксиса”. Применение метода ANOVA не выявило достоверного влияния фактора пол на становление двигательных рефлексов ($F_{1,68}=0.17$; $p>0.65$ в тесте “рефлекс переворота” и $F_{1,35}<0.10$; $p>0.80$ в тестах “рефлекс отрицательного геотаксиса” и “рефлекс ползания”). Было показано значимое влияние фактора “группа” на величину такого показателя, как “латентный период переворота со спины на лапы” ($F_{2,68}=4.37$; $p<0.04$) (рис. 4). В группе крыс, получавших в/б инъекции ФА, было показано достоверное ($p<0.05$) увеличение времени переворота по сравнению с группой “КОН” и “ИК”. Достоверных отличий между группами “КОН” и “ИК” зарегистрировано не было.

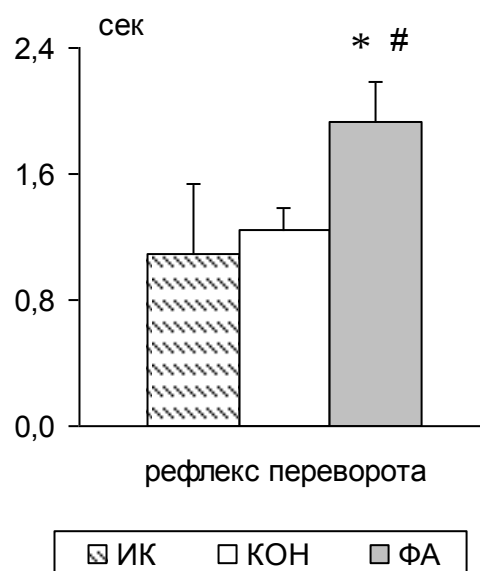


Рис. 4. Влияние флувоксамина на время выполнения реакции в тесте “рефлекс переворота” на 6 ПНД. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД. Число животных в группе: n (ИК)=16, n (КОН)=30, n (ФА)=28. Значимое отличие от группы “КОН” ($p<0.05$) отмечено *; от группы “ИК” ($p<0.05$) – #.

Значимое влияние фактора группа на время выполнения реакции также было показано в тесте “рефлекс отрицательного геотаксиса” ($F_{2,35}=4.38$; $p<0.05$). В данном тесте наблюдалась аналогичная “рефлексу переворота” задержка времени выполнения реакции у крысят группы “ФА” по сравнению с группами “КОН” и “ИК” (рис. 5).

В тесте “рефлекс ползания” не было зарегистрировано значимых различий по времени выполнения реакции у крыс трех экспериментальных групп ($F_{2,35}=0.67$; $p=0.52$) (рис. 6).

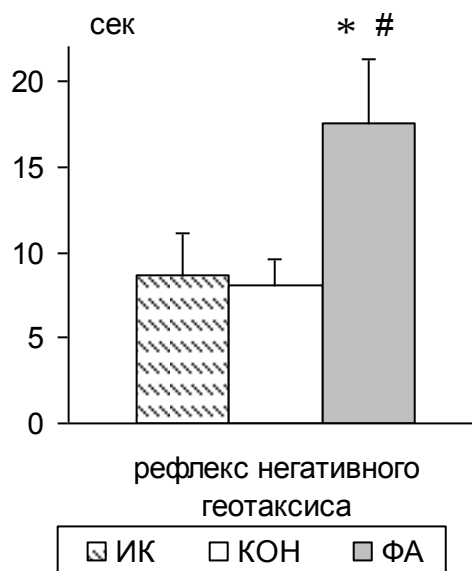


Рис. 5. Влияние флувоксамина на время выполнения реакции в тесте “рефлекс негативного геотаксиса” на 12 ПНД. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД. Число животных в группе: n (ИК)=13, n (КОН)=14, n (ФА)=14. Значимое отличие от группы “КОН” ($p<0.05$) отмечено *; от группы “ИК” ($p<0.05$) – #.

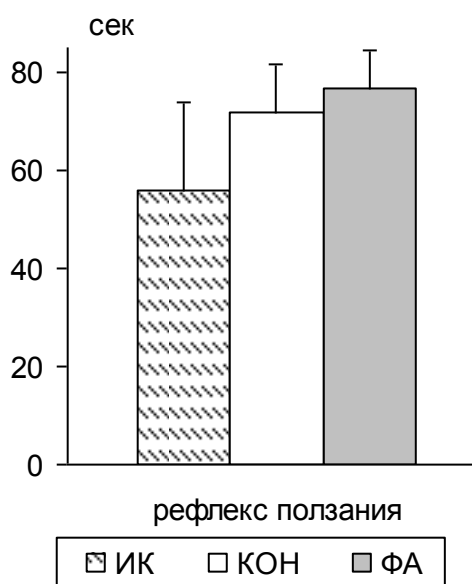


Рис. 6. Влияние флувоксамина на время выполнения реакции в тесте “рефлекс ползания” на 10 ПНД. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД. Число животных в группе: n (ИК)=13, n (КОН)=14, n (ФА)=14.

Таким образом, нами было зарегистрировано увеличение латентного периода выполнения рефлексов переворота и отрицательного геотаксиса в группе животных, получавших инъекции ФА с 1 по 14 ПНД, что свидетельствует о замедлении становления моторных рефлексов.

1.2. Влияние неонатального введения флувоксамина на содержание биогенных аминов и их метаболитов в различных отделах мозга крыс в возрасте 16 дней.

Измерение содержания биогенных аминов и их метаболитов в мозге крыс проводили на 16 ПНД. Результаты представлены в таблице (табл. 2). Нами не было выявлено значимого влияния пола на регистрируемые показатели ($F < 3.0$; $p > 0.10$). Для измерения были использованы животные пяти выводков, в каждом выводке по 3-4 крысенка из каждой группы. Применение двухфакторного ANOVA метода (фактор 1 – группа: фактор 2 – выводок) показало достоверное влияние фактора группа на следующие показатели – содержание 5-ГИУК в гиппокампе ($F_{2,38} = 4.36$; $p < 0.02$), фронтальной коре ($F_{2,36} = 3.55$; $p < 0.04$) и стриатуме ($F_{2,40} = 12.13$; $p < 0.001$), а также содержание НА, 5-НТ и 5-ГИУК в гипоталамусе ($F_{2,40} > 4.5$; $p < 0.02$). Не было зарегистрировано значимого влияния фактора группа на уровень ДА и его метаболитов во всех исследованных структурах ($F < 2.60$; $p > 0.10$). Методом ANOVA было выявлено достоверное влияние фактора “выводок” на большинство показателей ($F_{4,38} > 2.95$; $p < 0.05$), что свидетельствует о вариабельности показателей в разных выводках. При этом достоверного взаимодействия факторов группа и выводок не наблюдалось ($F_{8,38} < 1.50$; $p > 0.20$). Чтобы исключить влияние фактора выводок значения параметров для каждого выводка нормировали к собственному контролю. В дальнейшем анализе не было выявлено достоверных отличий содержания биогенных аминов и их метаболитов в исследованных структурах мозга между группами “ИК” и “КОН”. В группе “ФА” отмечалось значимое увеличение содержания НА в гипоталамусе, 5-НТ в гиппокампе и 5-ГИУК во всех структурах по отношению к контролю (рис. 7). Соотношение 5-ГИУК/5-НТ в группе “ФА” во всех исследованных структурах достоверно превышало соответствующие значения в группе “КОН”. По сравнению с интактным контролем в группе крыс, получавших ФА, было зарегистрировано достоверное увеличение содержания 5-НТ в гиппокампе, гипоталамусе и стриатуме, НА в гипоталамусе и 5-ГИУК в гиппокампе, гипоталамусе и стриатуме, а также возрастание соотношения 5-ГИУК/5-НТ в гиппокампе (рис. 7). Кроме того, отмечалась тенденция к увеличению уровня 5-ГИУК во фронтальной коре и соотношения 5-ГИУК/5-НТ в гипоталамусе и стриатуме относительно интактного контроля ($p < 0.10$).

Таблица 2. Содержание биогенных аминов и их метаболитов (нмоль/г ткани) в различных отделах мозга крыс в возрасте 16 ПНД.

	Фронтальная кора				Гиппокамп				Гипоталамус				Стриатум			
	ИК	КОН	ФА	F (p)	ИК	КОН	ФА	F (p)	ИК	КОН	ФА	F (p)	ИК	КОН	ФА	F (p)
НА	0,40 ± 0,07	0,36 ± 0,02	0,39 ± 0,04	0.96 (0.39)	0,72 ± 0,11	0,76 ± 0,10	0,86 ± 0,12	0.56 (0.57)	3,10 ± 0,21	3,37 ± 0,10	3,63 ± 0,10	4.50 (0.02)	0,50 ± 0,14	0,67 ± 0,17	0,55 ± 0,14	0.48 (0.62)
ДА	0,11 ± 0,01	0,18 ± 0,03	0,16 ± 0,03	2.26 (0.12)	0,05 ± 0,01	0,08 ± 0,02	0,05 ± 0,01	1.93 (0.16)	0,96 ± 0,07	1,21 ± 0,10	1,09 ± 0,06	2.63 (0.09)	19,93 ± 0,63	19,72 ± 0,76	18,74 ± 0,70	1.02 (0.37)
ДОФУК	0,11 ± 0,04	0,07 ± 0,02	0,05 ± 0,02	1.64 (0.21)	0,17 ± 0,02	0,17 ± 0,02	0,16 ± 0,02	1.92 (0.16)	0,38 ± 0,05	0,35 ± 0,05	0,44 ± 0,04	0.74 (0.48)	3,46 ± 0,15	3,46 ± 0,16	3,31 ± 0,17	0.21 (0.81)
ГВК	0,21 ± 0,04	0,19 ± 0,04	0,10 ± 0,02	2.37 (0.12)	0,54 ± 0,17	0,75 ± 0,12	0,75 ± 0,16	0.65 (0.53)	0,37 ± 0,05	0,31 ± 0,04	0,35 ± 0,04	0.60 (0.55)	2,49 ± 0,20	2,56 ± 0,13	2,68 ± 0,11	0.25 (0.78)
5-НТ	1,16 ± 0,09	1,16 ± 0,05	1,19 ± 0,08	0.40 (0.67)	1,22 ± 0,06	1,23 ± 0,03	1,30 ± 0,04	1.33 (0.28)	2,47 ± 0,15	2,92 ± 0,11	3,04 ± 0,11	8.33 (0.001)	1,15 ± 0,06	1,27 ± 0,06	1,36 ± 0,09	1.09 (0.35)
5-ГИУК	0,44 ± 0,03	0,41 ± 0,03	0,47 ± 0,03	3.55 (0.04)	0,95 ± 0,07	0,96 ± 0,05	1,07 ± 0,06	4.36 (0.02)	1,49 ± 0,12	1,68 ± 0,09	1,89 ± 0,10	7.78 (0.002)	1,22 ± 0,08	1,32 ± 0,09	1,49 ± 0,09	12.13 (0.001)

Число животных в группе: n (ИК)=18, n (КОН)=19, n (ФА)=18. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД.

НА - норадреналин; ДА – дофамин; ДОФУК - 3,4-дигидроксифенилукусная кислота; ГВК - гомованилиновая кислота;

5-НТ - серотонин; 5-ГИУК – 5-гидроксииндолукусная кислота.

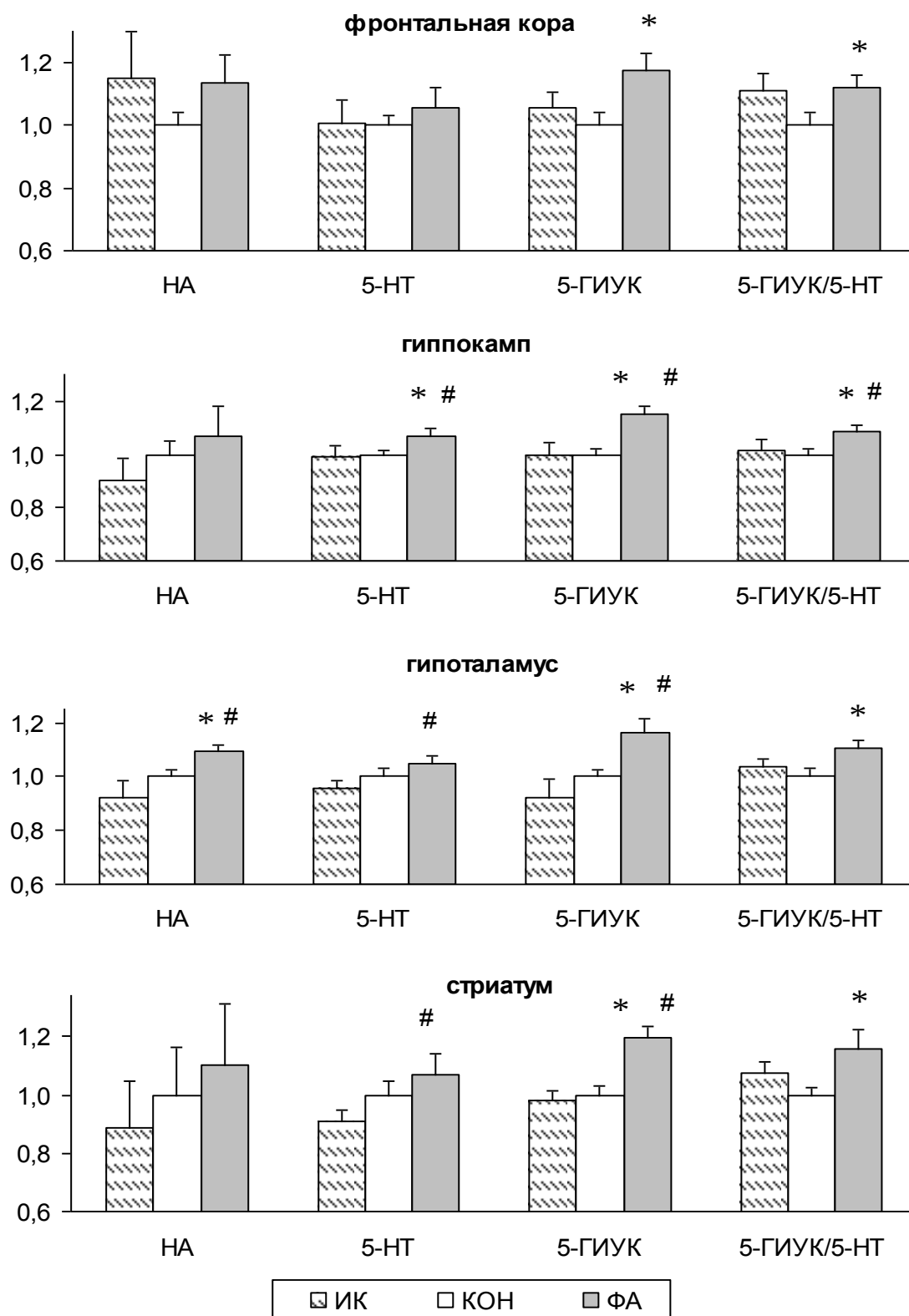


Рис. 7. Влияние флувоксамина на содержание биогенных аминов и их метаболитов в различных структурах головного мозга крыс в возрасте 16 дней. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД. Число животных в группе: n (ИК)=18, n (КОН)=19, n (ФА)=18. Значимое отличие от группы "КОН" ($p < 0.05$) отмечено *; от группы "ИК" ($p < 0.05$) – #.

1.3. Обсуждение результатов

Сопоставление результатов, полученных в группах “интактный контроль” и “контроль”, позволяет заключить, что ежедневные в/б инъекции растворителя в течение первых 14 дней жизни не приводят к достоверному увеличению уровня летальности, а также не вызывают значимых изменений скорости соматического роста, времени открытия глаз и становления моторных рефлексов, т.е. не влияют на физическое и сенсомоторное развитие животных. Кроме того, ежедневные инъекции растворителя не оказывают воздействия на состояние системы биогенных аминов мозга крыс в возрасте 16 дней. Следовательно, использованные экспериментальные манипуляции не приводят к значимым изменениям физиологических и нейрохимических показателей, регистрируемых в данном исследовании.

В группе крыс, получавших ежедневные инъекции ФА с 1 по 14 ПНД, отмечается значимое увеличение уровня летальности относительно контрольных групп животных. Кроме того, у животных группы “ФА” наблюдается замедление набора веса. Негативное влияние неонатального введения препаратов группы СИОЗС на изменение массы тела животных было зарегистрировано в ряде исследований. Так, показано, что к замедлению роста животных приводит введение в ранний период развития крыс циталопрама [Deiró et al., 2008], сертралина [Deiró et al., 2006; Kummet et al., 2012] и флуоксетина [Karpova et al., 2009]. Известно, что серотонинергическая система играет важную роль в регуляции аппетита и потребления пищи. Препараты, увеличивающие внеклеточное содержание 5-НТ, проявляют выраженную анорексигенную активность [Halford, Blundell, 2000]. Поэтому нельзя исключить, что влияние СИОЗС на изменение массы тела связано с анорексигенными эффектами 5-НТ. Также показано, что неонатальное введение СИОЗС приводит к развитию гиперметаболического состояния у мышей [Kummet et al., 2012]. Повышение уровня метаболизма у животных, получавших ФА, также может быть причиной замедления набора веса.

Нами также было показано, что у крысят, получавших инъекции флувоксамина, глаза открывались в более раннем возрасте, чем у контрольных животных. Известно, что во время активного развития нервной системы моноамины играют роль трофических факторов. В пренатальный и ранний постнатальный период серотонин является сигнальным фактором в процессах клеточной пролиферации и дифференцировки в нервной ткани, а также влияет на развитие эпителиальной ткани [Lauder et al., 1988; Homberg et al., 2010]. Показано, что неонатальное введение предшественника серотонина 5-гидрокситриптофана приводит к более раннему открытию глаз [Bakke et al., 1978]. Можно предположить, что увеличение активности серотонинергической системы в этот

период приводит к ускорению развития зрительного анализатора. Вероятно, именно с этим связано более раннее открытие глаз в группе крыс, получавших инъекции флувоксамина.

Нами было зарегистрировано увеличение латентного периода выполнения рефлексов переворота и отрицательного геотаксиса в группе животных, получавших инъекции ФА, что свидетельствует о замедлении становления моторных рефлексов. Задержка развития двигательных рефлексов была отмечена в работах Diero и соавторов, которые показали более позднее становление рефлексов у крыс, которым неонатально вводили сертралин [Deiró et al., 2006] или циталопрам [Deiró et al., 2008]. Следовательно, введение СИОЗС крысам в ранний постнатальный период приводит к нарушению развития моторных функций. Известно, что в период интенсивного развития мозга изменения содержания биогенных аминов, вызванные фармакологическими или стрессорными воздействиями, могут приводить к необратимым морфологическим и функциональным изменениям в ЦНС [Lopes de Souza et al., 2004]. Так, показано, что неонатальное введение флуоксетина приводит к уменьшению числа и размеров 5-НТ нейронов в ядрах шва и количества 5-НТ терминалей в гиппокампе [Mendes da Silva et al., 2010]. Увеличение содержания серотонина в мозге в период развития нарушает миелинизацию аксонов [Kinast et al., 2013]. Неонатальное воздействие СИОЗС вызывает морфологические изменения нейронов стриатума и моторной коры – снижается длина и разветвленность дендритов и уменьшается плотность дендритных шипиков [Lee, Lee, 2012]. Такие изменения могут приводить к задержке развития двигательных функций [Kinast et al., 2013].

Таким образом, проведенные нами эксперименты показали, что неонатальное введение ФА с 1 по 14 ПНД вызывает замедление соматического роста, снижение возраста открытия глаз и задержку становления моторных рефлексов. Возраст открытия глаз и изменения массы тела отражают уровень физического развития животных, в то время как динамические тесты на выполнение моторных рефлексов позволяют оценить созревание вестибулярной функции. В ряде работ было показано разнонаправленное влияние неонатальных воздействий на физическое и моторное развитие животных. Так, неонатальный стресс, вызванный долговременной материнской депривацией, приводил к снижению возраста открытия глаз и задержке становления моторных рефлексов. При этом у животных отмечалось увеличение активности серотонинергической системы [Mesquita et al., 2007]. Влияние неонатального введения ФА на возраст открытия глаз, вероятно, связано с его трофической функцией на ранних этапах онтогенеза, так как ускорение развития нервных и эпителиальных клеток может приводить к более раннему созреванию зрительного анализатора. Негативное влияние ФА на становление моторных рефлексов

может определяться морфологическими изменениями в ЦНС, вызванными неонатальным введением СИОЗС. Такие изменения приводят к нарушению формирования связей между структурами мозга, что может лежать в основе замедленного созревания двигательных функций [Kinast et al., 2013].

В наших экспериментах измерение уровня биогенных аминов и их метаболитов проводилось через 48 часов после последней инъекции ФА. Флувоксамин обладает наиболее короткой длительностью действия из всех препаратов группы СИОЗС, время полу-жизни этого антидепрессанта составляет 15-17 час, и его метаболиты не обладают физиологической активностью [Renoir, 2013]. Следовательно, через 48 час мы наблюдаем эффекты отмены введения препарата. Исследования, проведенные на взрослых животных, показали, что после окончания хронического введения СИОЗС наблюдается увеличение содержания метаболита серотонина 5-ГИУК, а также возрастание соотношения 5-ГИУК/5-НТ в различных отделах мозга крыс [Stenfors, Ross, 2002; Bosker et al., 2010; Renoir, 2013]. В зависимости от длительности действия препарата эффект развивается через 48-72 час после последней инъекции и сохраняется до 2 недель [Trouvin et al., 1993]. Согласно полученным нами данным, прекращение введения ФА крысам в возрасте 14 дней также приводит к увеличению содержания 5-ГИУК и соотношения 5-ГИУК/5-НТ в различных отделах мозга. Соотношение 5-ГИУК/5-НТ является показателем скорости оборота серотонина в мозге, и возрастание этого соотношения свидетельствует об увеличении активности 5-НТ системы.

Согласно клиническим данным, резкое прекращение приема препаратов группы СИОЗС вызывает синдром отмены, который включает в себя такие симптомы, как психомоторное возбуждение, тревожность, нарушения сна, головокружение, и др. Вероятным механизмом этого синдрома является возрастание активности серотонинергической системы мозга [Renoir, 2013]. У 15-30% новорожденных, получавших пренатально СИОЗС, отмечается нарушение неонатальной адаптации [Yonkers et al., 2009]. Большинство исследователей также связывают эти нарушения с прекращением действия препаратов [Rampono et al., 2009; Domar et al., 2013]. Можно предположить, что, как и в случае взрослых пациентов, неонатальный синдром отмены связан с увеличением активности 5-НТ системы после прекращения действия СИОЗС. Полученные нами данные о возрастании скорости оборота серотонина у животных после завершения курса неонатального введения флувоксамина подтверждают это предположение.

Многочисленные клинические исследования свидетельствуют о том, что пренатальное воздействие препаратов группы СИОЗС (особенно в течение третьего

триместра) негативно влияет на исход беременности и состояние новорожденных. Отмечается увеличение числа спонтанных выкидышей и неонатальной смертности, снижение веса новорожденных, а в дальнейшем нарушение неонатальной адаптации и задержка психомоторного развития [Smith et al., 2013, Domar et al., 2013; Stephansson et al., 2013]. Проведенное нами исследование показало, что хроническое введение селективного ингибитора обратного захвата серотонина - флувоксамина детенышам белых крыс с 1 по 14 дни жизни приводит к увеличению уровня летальности, замедлению соматического роста и задержке моторного развития. Кроме того, в ответ на прекращение введения препарата наблюдается возрастание активности серотонинергической системы в различных отделах мозга. Полученные нами данные позволяют заключить, что введение СИОЗС детенышам крыс в течение первых недель жизни является адекватной моделью для изучения эффектов пренатального воздействия препаратов этой группы у человека.

ГЛАВА 2. ВЛИЯНИЕ ФЛУВОКСАМИНА НА ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ, ПОВЕДЕНИЕ И СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ БИОГЕННЫХ АМИНОВ КРЫС В АДОЛЕСЦЕНТНОМ ПЕРИОДЕ. КОРРЕКЦИЯ СЕМАКСОМ ЭФФЕКТОВ ФЛУВОКСАМИНА

Во второй части работы оценивали физическое развитие, параметры поведения и содержание биогенных аминов мозга у крыс в возрасте 15-32 дня. Для изучения эффектов ФА и оценки влияния последующего введения семакса каждый выводок крыс делили на 3 группы:

- 1) “КОН” – крысы с 1 по 14 ПНД получали в/б инъекции воды, с 15 по 28 ПНД – и/н инъекции воды;
- 2) “ФА” – крысы с 1 по 14 ПНД получали в/б инъекции флувоксамина, с 15 по 28 ПНД – и/н инъекции воды;
- 3) “ФА-Сем” – с 1 по 14 ПНД получали в/б инъекции флувоксамина, с 15 по 28 ПНД – и/н инъекции семакса (0.05 мг/кг).

Изучение влияния экспериментальных манипуляций и собственных эффектов семакса проводилось на отдельных выводках, при этом каждый выводок также делили на 3 группы:

- 1) “КОН” – крысы с 1 по 14 ПНД получали в/б инъекции воды, с 15 по 28 ПНД – и/н инъекции воды;
- 2) “ИК” – крыс ежедневно только взвешивали;
- 3) “Сем” – крысы с 1 по 14 ПНД получали в/б инъекции воды, с 15 по 28 ПНД – и/н инъекции семакса (0.05 мг/кг).

2.1. Влияние флувоксамина и семакса на изменение массы тела крыс в возрасте 15-30 дней

В качестве показателя физического развития рассматривали скорость соматического роста крыс. В данной главе будет рассмотрено изменение массы тела в период с 15 по 30 день жизни крыс. Как и в первой серии экспериментов (глава 1), введение ФА приводило к снижению массы тела крыс. В возрасте 15 ПНД масса тела контрольных животных значимо превышала массу тела крыс, получавших ФА (“КОН” – 27.2 ± 0.5 г., “ФА” – 25.6 ± 0.6 г., “ФА-Сем” – 25.9 ± 0.5 г., $p < 0.05$ относительно контроля).

Применение двухфакторного ANOVA метода для повторных измерений не выявило достоверного влияния фактора “группа” ($F_{2,171}=2.0$, $p < 0.14$) и фактора “пол” ($F_{1,171}=0.5$, $p < 0.47$) на изменение массы тела крыс с 15 по 30 ПНД. Во всех группах масса тела достоверно увеличивалась в течение двух недель ($F_{15,2565}=3689.7$, $p < 0.00001$). Достоверного взаимодействия факторов “группа”, “пол” и “возраст” отмечено не было (рис. 8).

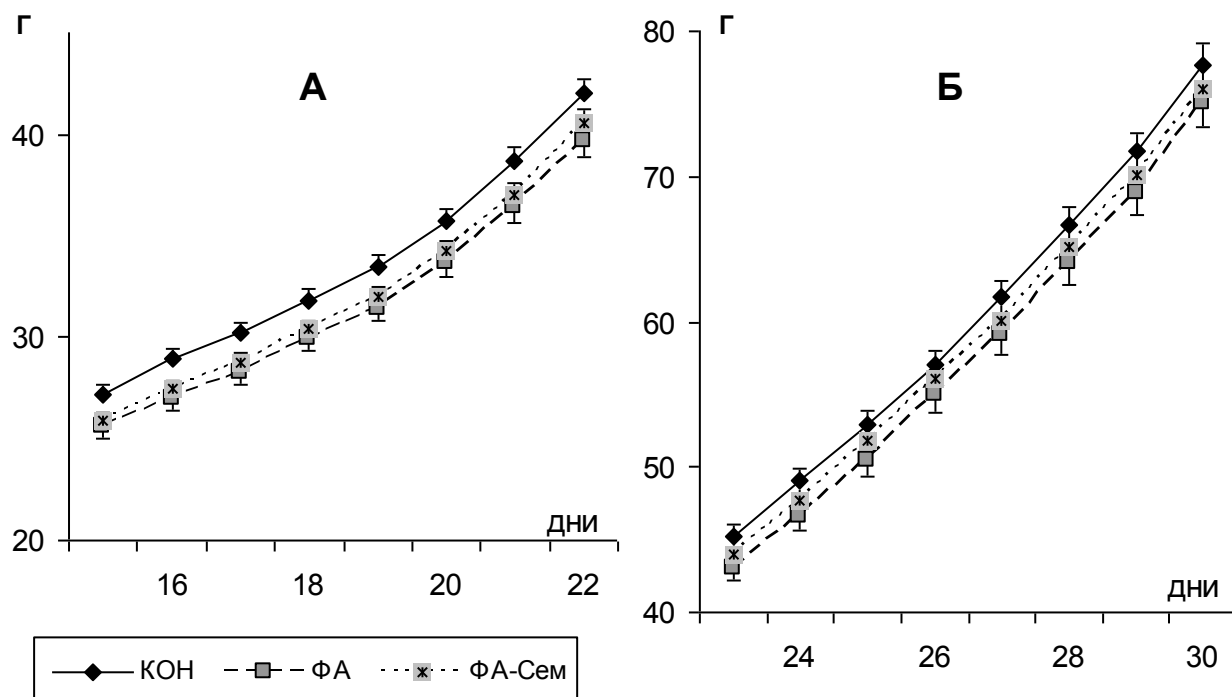


Рис. 8. Изменение массы тела крыс с 15 по 22 (А) и с 23 по 30 (Б) дни жизни. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 ПНД. По оси абсцисс – возраст крыс, по оси ординат – масса тела. Число животных в группе: n (КОН)=63; n (ФА)=56; n (ФА-Сем)=58.

Однако с 15 по 24 ПНД нами было зарегистрировано значимое влияние фактора “группа” на массу тела крыс ($F_{2,171}=3.1$, $p<0.05$). Последующий анализ показал, что достоверное отставание по массе от контроля в группе “ФА” сохраняется до 28 ПНД ($F_{1,115}=3.98$, $p<0.05$), в то время как в группе “ФА-Сем” только до 22 ПНД ($F_{1,117}=4.1$, $p<0.05$).

Таким образом, отставание от контроля по массе тела, вызванное неонатальным введением ФА, сохраняется в течение двух недель после отмены препарата. Вес крысят, получавших инъекции семакса после завершения курса ФА, через 8 дней после отмены антидепрессанта не отличается от контрольных значений.

Оценка влияния использованных экспериментальных манипуляций и ежедневного введения семакса в течение 3-4 недель жизни крыс не выявила значимого влияния факторов “группа” ($F_{2,42}=0.09$, $p<0.92$) и “пол” ($F_{1,42}=1.39$, $p<0.25$) на изменение массы тела животных с 15 по 30 ПНД. В возрасте 15 дней масса тела крыс в группах “ИК” и “Сем” не отличалась от контрольных значений (“ИК” – 27.4 ± 1.4 г., “КОН” – 27.3 ± 1.5 г., “Сем” – 26.8 ± 1.5 г., $p>0.80$ относительно контроля). Во всех группах масса тела достоверно

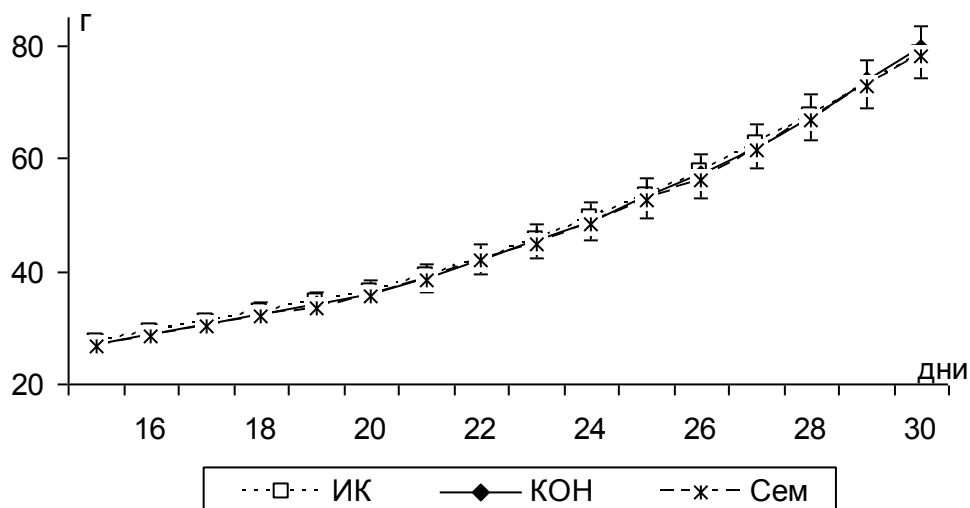


Рис. 9. Изменение массы тела крыс с 15 по 30 дни жизни. Семакс вводили и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 ПНД. По оси абсцисс – возраст крыс, по оси ординат – масса тела. Число животных в группе: n (ИК)=16; n (КОН)=16; n (Сем)=16.

увеличивалась в течение двух недель ($F_{15,630}=735,4$, $p<0.00001$). Достоверного взаимодействия факторов “группа”, “пол” и “возраст” отмечено не было (рис. 9).

Таким образом, ежедневные в/б инъекции растворителя с 1 по 14 дни жизни крыс не влияют на соматический рост крысят. Ежедневное введение семакса с 15 по 28 ПНД также не оказывает влияния на изменение массы тела животных в возрасте 15-30 дней.

2.2. Оценка ориентировочно-исследовательской активности и уровня тревожности белых крыс в возрасте 30-31 день.

Ориентировочно-исследовательская активность и уровень тревожности животных оценивали в бесстрессорной модификации теста “открытое поле” (ОП) на 30 день жизни, а также в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ) на 31 день жизни в условиях высокой (яркое освещение) или низкой (однородное освещение) стрессорной нагрузки.

2.2.1. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в бесстрессорной модификации теста ОП на 30 день постнатального развития

При оценке влияния ФА на поведение крыс в бесстрессорной модификации теста “открытое поле” применение метода ANOVA не выявило значимого влияния факторов “группа” ($F_{2,177}<1,5$, $p>0.25$) и “пол” ($F_{1,177}<0.95$, $p>0.35$) на регистрируемые параметры, а также достоверного взаимодействия этих факторов. Однако отмечалось снижение величины пробега и числа отходов от стенки арены в группе “ФА” относительно

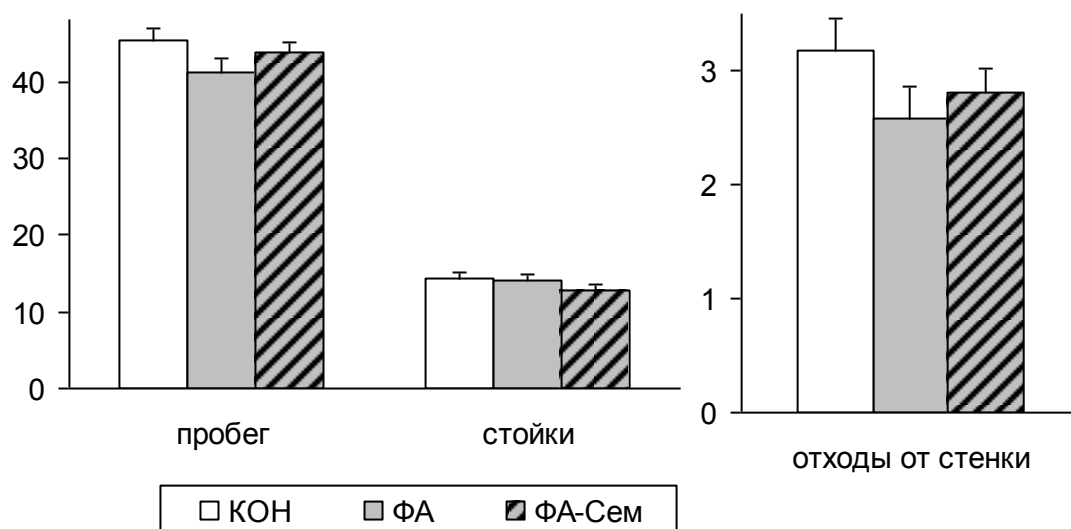


Рис. 10. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в бесстрессорной модификации теста “открытое поле” на 30 ПНД. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 ПНД. Число животных в группе: n (КОН)=64; n (ФА)=56; n (ФА-Сем)= 63.

контроля, но это отличие не достигало уровня значимости ($p > 0.10$) (рис. 10). Кроме того, была выявлена тенденция к взаимодействию факторов “группа” и “пол” для этих показателей (пробег - $F_{2,177}=2.48$, $p < 0.10$; отходы от стенки арены - $F_{2,177}=2.58$, $p < 0.08$). Поэтому данные по горизонтальной двигательной активности и отходам от стенки арены на рис. 11 представлены отдельно для самцов и самок.

В подгруппе самцов не было зарегистрировано достоверных различий параметров поведения в ОП между группами. В подгруппе самок было отмечено значимое снижение суммарного пробега и количества отходов от стенки арены у животных группы “ФА” по сравнению с контролем. Введение семакса приближало данные показатели к контрольным значениям (рис. 11).

Таким образом, хроническое неонатальное введение ФА приводит к незначительному снижению горизонтальной двигательной активности и числа отходов от стенки арены в тесте ОП у крысят в возрасте 1 месяц. Характер отмеченных изменений свидетельствует об увеличении тревожности у крысят, получавших ФА. Эффекты неонатального введения ФА зависят от пола крыс – у самцов, получавших ФА, параметры поведения не отличаются от контроля, введение препарата самкам приводит к достоверному увеличению тревожности. Последующее введение семакса в течение 3-4 недель жизни ослабляет негативное влияние ФА на поведение крыс, повышает исследовательскую активность и снижает тревожность у самок, получавших ФА.

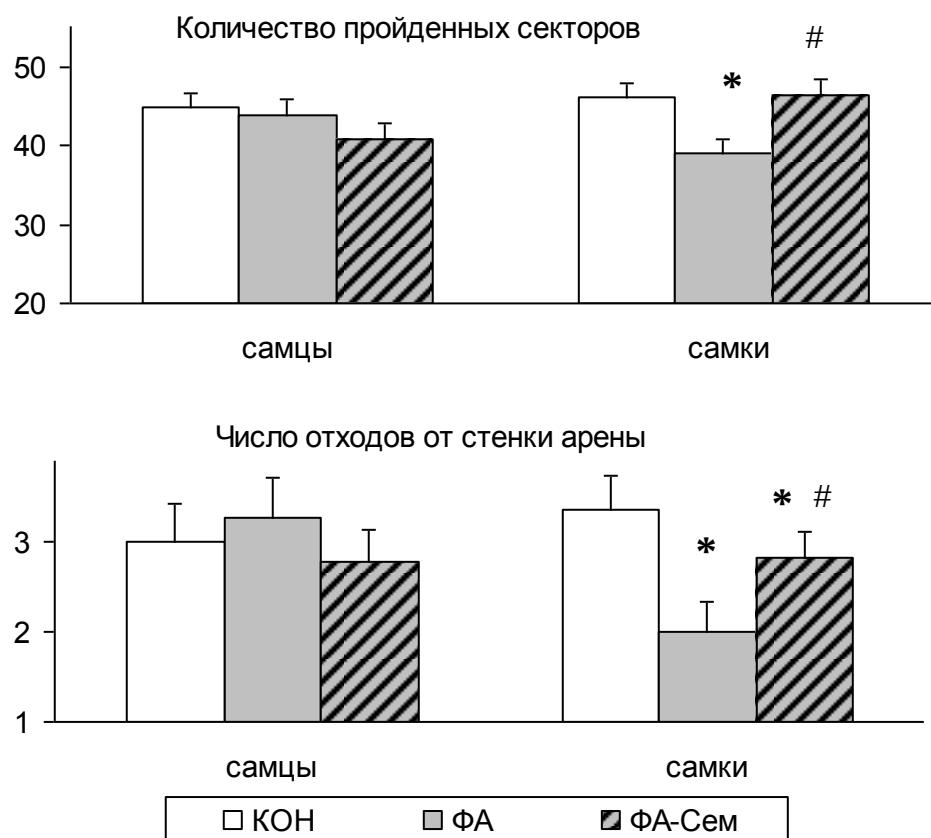


Рис. 11. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения самцов и самок крыс в бесстрессорной модификации теста “открытое поле” на 30 ПНД. Число животных в подгруппе самцов: n (КОН)=31; n (ФА)=26; n (ФА-Сем)=29; в подгруппе самок: n (КОН)=33; n (ФА)=30; n (ФА-Сем)=34. Значимое отличие от контроля ($p < 0.05$) отмечено *, от группы “ФА” ($p < 0.05$) - #.

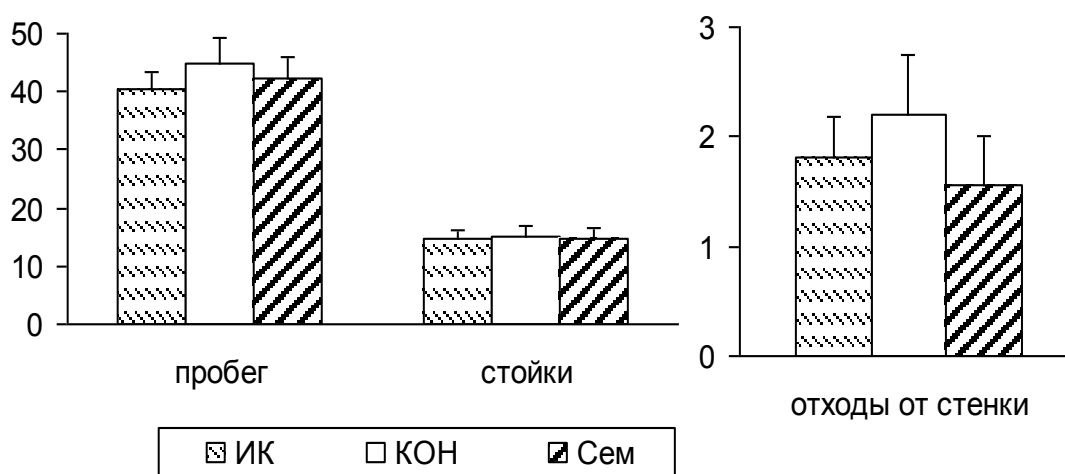


Рис. 12. Влияние семакса на параметры поведения в тесте “открытое поле” на 30 ПНД. Семакс вводили и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 дни жизни крыс. Число животных в группе: n (ИК)=16; n (КОН)=16; n (Сем)=16.

Оценка влияния экспериментальных манипуляций и ежедневного введения семакса в течение 3-4 недель жизни крыс не выявила значимого влияния факторов “группа” ($F_{2,42} < 2.00$, $p < 0.15$) и “пол” ($F_{2,42} < 2.50$, $p < 0.18$) на параметры поведения крыс в ОП, а также достоверного взаимодействия этих факторов (рис. 12). Следовательно, как ежедневные в/б инъекции растворителя с 1 по 14 дни жизни крыс, так и ежедневное введение семакса с 15 по 28 ПНД не оказывают влияния на исследовательское поведение и уровень тревожности крыс в возрасте 30 дней в тесте ОП.

2.2.2. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения крыс в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” на 31 день постнатального развития

Уровень тревожности животных в возрасте 31 ПНД оценивали в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт”, при этом часть животных тестировали в условиях повышенной стрессорной нагрузки, остальных крыс – в условиях незначительной стрессорной нагрузки. Применение метода ANOVA для анализа поведения животных в тесте ПКЛ не выявило значимого влияния фактора “пол” ($F_{2,105} < 1.65$, $p > 0.20$ и $F_{2,43} < 2.30$, $p > 0.15$, для яркого и рассеянного освещения, соответственно), а также достоверного взаимодействия факторов “пол” и “группа”. Поэтому все данные приведены совместно для подгрупп самцов и самок.

В условиях высокой стрессорной нагрузки нами было зарегистрировано достоверное влияния фактора “группа” на число выходов из закрытых рукавов лабиринта ($F_{2,105} = 3.67$, $p < 0.03$). Кроме того, отмечалось влияние фактора “группа” на величину ЛП выхода на открытые рукава и время, проведенное на свету, однако эти эффекты не достигали уровня значимости ($F_{2,105} = 2.60$, $p < 0.08$ и $F_{2,105} = 3.00$, $p < 0.06$). Дальнейший анализ показал, что у крысят, получавших флувоксамин, отмечалось достоверное увеличение латентного периода выхода на открытые рукава, а также значимое снижение времени, проведенного на свету, и числа выходов из закрытых рукавов лабиринта относительно аналогичных показателей в группе “КОН” (рис. 13.1). При этом по числу стоек и свешиваний значимых отличий между группами “КОН” и “ФА” зарегистрировано не было (рис. 13.2). Такие изменения свидетельствуют о повышении уровня тревожности у животных, получавших неонатально флувоксамин. Последующее введение семакса значительно ослабляло влияние ФА на показатели поведения, приближая их к контрольным значениям. Параметры поведения крыс в группе “ФА-Сем” значимо не отличались от контроля. При этом было зарегистрировано достоверное увеличение времени, проведенного на открытых рукавах, и числа выходов на открытые рукава по сравнению с группой “ФА”, кроме того отмечалась тенденция к снижению ЛП выхода на открытые рукава ($p < 0.08$) (рис. 13).

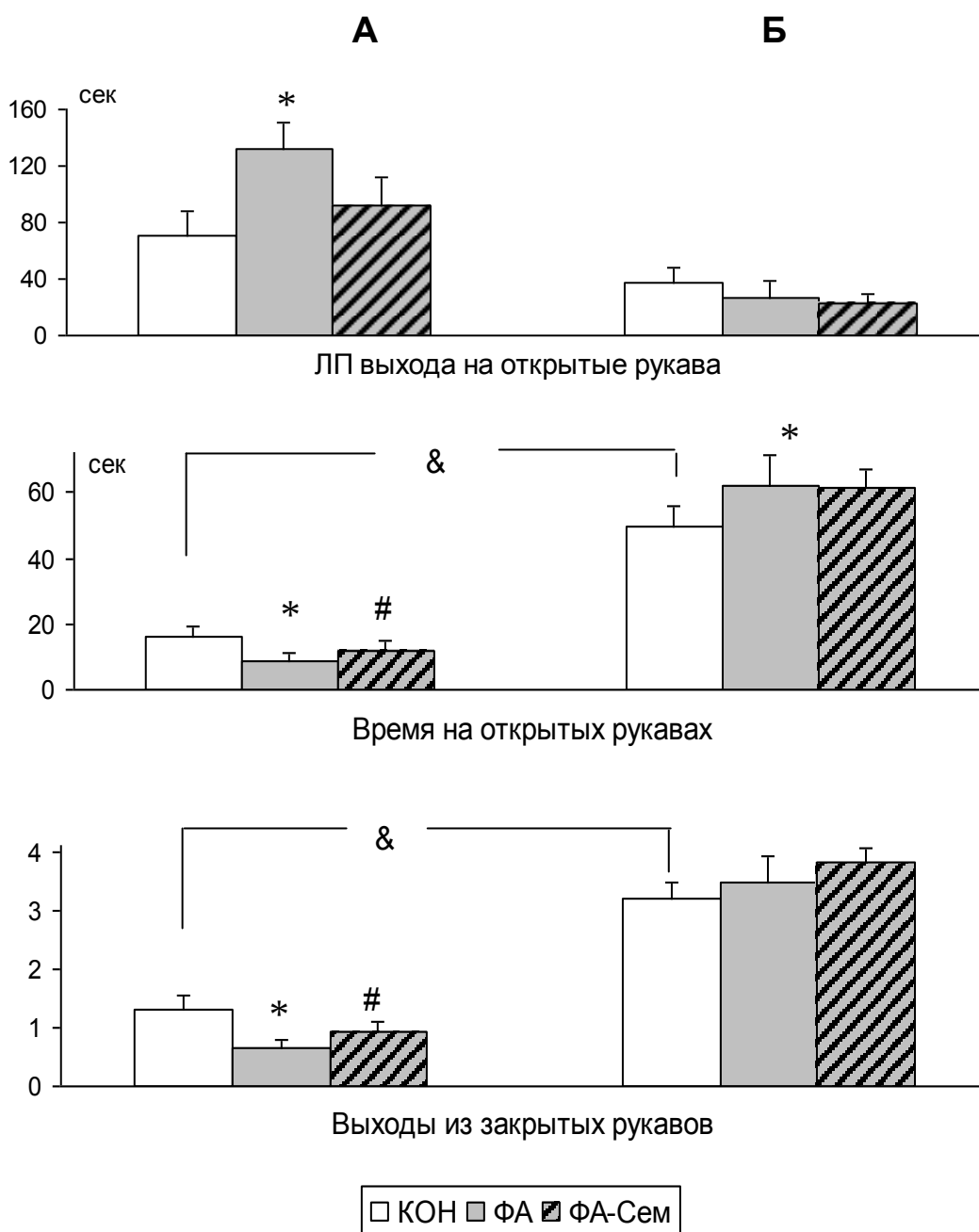


Рис. 13.1. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” на 31 ПНД в условиях высокой (А) и низкой (Б) стрессорной нагрузки. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 дни жизни крыс. Число животных в группе: А – n (КОН)=40; n (ФА)=34; n (ФА-Сем)=37; Б – n (КОН)=16; n (ФА)=15; n (ФА-Сем)=18. Значимые отличия между контрольными группами ($p < 0.01$) отмечены &, значимые отличия от соответствующего контроля ($p < 0.05$) отмечены *, от группы “ФА” ($p < 0.05$) – #.

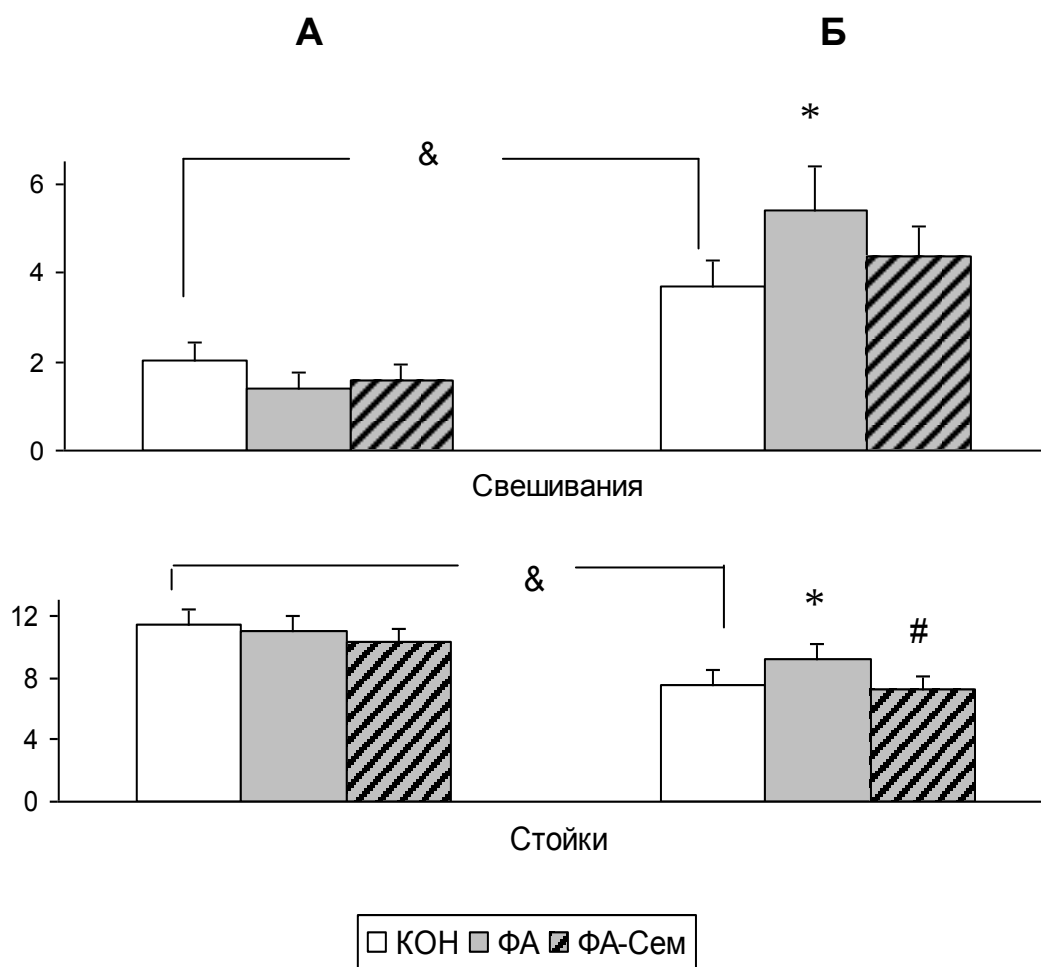


Рис. 13.2. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” на 31 ПНД в условиях высокой (А) и низкой (Б) стрессорной нагрузки. Обозначения, как на рис. 13.1.

Уменьшение стрессорной нагрузки в тесте ПКЛ (равномерное неяркое освещение лабиринта) приводит к снижению у животных реакции тревоги и страха. Сравнение параметров поведения крыс контрольных групп в тесте ПКЛ в различных экспериментальных условиях показало, что снижение стрессорной нагрузки приводит к достоверному увеличению времени, проведенного на освещенной части лабиринта, числа выходов из закрытых рукавов и числа свешиваний, а также снижению числа стоек ($p < 0.01$). В таких условиях различия между группами выражены меньше, чем в стрессогенных условиях. Нами не было зарегистрировано достоверного влияния фактора “группа” на параметры поведения крыс в ПКЛ, отмечалось только незначительное изменение числа свешиваний под влиянием этого фактора ($F_{2,43} = 2.29$, $p < 0.12$). Дальнейший анализ показал, что у крысят, получавших неонатально флувоксамин, в условиях однородного освещения наблюдается достоверное увеличение времени

проведенного на свету, количества стоек и свешиваний с открытых рукавов лабиринта относительно контроля (рис. 13). Характер отмеченных изменений свидетельствует об увеличении исследовательской активности в условиях низкой стрессорной нагрузки у животных, получавших флувоксамин. Введение семакса в течение 3-4 недели жизни незначительно ослабляло эффекты ФА. Семакс снижал число стоек и свешиваний с открытых рукавов, приближая их к контрольным значениям (рис. 13).

Таким образом, неонатальное введение флувоксамина приводило в дальнейшем к изменению поведения в ПКЛ в условиях как низкой, так и высокой стрессорной нагрузки. Последующее введение семакса не оказывало значительного эффекта при низкой стрессорной нагрузке, но в условиях, провоцирующих реакцию тревоги и страха, нормализовало повышенную тревожность животных.

Оценка влияния экспериментальных манипуляций и ежедневного введения семакса в течение 3-4 недель на поведение крыс в тесте ПКЛ в условиях высокой и низкой стрессорной нагрузки не выявила достоверного влияния факторов “группа” ($F_{2,12} < 1.3$, $p > 0.30$ и $F_{2,24} < 1.10$, $p > 0.35$) и “пол” ($F_{1,12} < 1.5$, $p > 0.26$ и $F_{1,24} < 0.35$, $p > 0.55$) на регистрируемые показатели. Также не было зарегистрировано значимого взаимодействия этих факторов. Однако дальнейший анализ показал, что при ярком освещении лабиринта у интактных животных время, проведенное на открытых рукавах, и число выходов из закрытых рукавов достоверно выше, чем в группе “контроль” ($p < 0.05$, χ^2 тест) (рис. 14.1). В группе крыс, получавших инъекции семакса, при ярком освещении число выходов на свет было значимо ниже, чем в группе “ИК”, по остальным показателям достоверных отличий от контроля и группы “ИК” отмечено не было (рис. 14).

Сравнение параметров поведения крыс контрольных групп в тесте ПКЛ в различных экспериментальных условиях показало, что снижение стрессорной нагрузки приводит к достоверному увеличению времени, проведенного на освещенной части лабиринта и снижению числа стоек ($p < 0.04$). Кроме того, отмечалась тенденция к увеличению числа выходов из закрытых рукавов и числа свешиваний в условиях однородного неяркого освещения ($p < 0.10$). В условиях низкой стрессорной нагрузки в группах интактных животных и животных, получавших семакс, число выходов из закрытых рукавов лабиринта было выше, чем в группе “КОН”, однако это отличие не достигало уровня достоверности ($p < 0.06$).

Следовательно, используемые экспериментальные манипуляции (ежедневные в/б инъекции растворителя с 1 по 14 дни жизни, интраназальные инъекции растворителя с 15 по 28 день жизни крыс) приводят в дальнейшем к повышению тревожности животных в

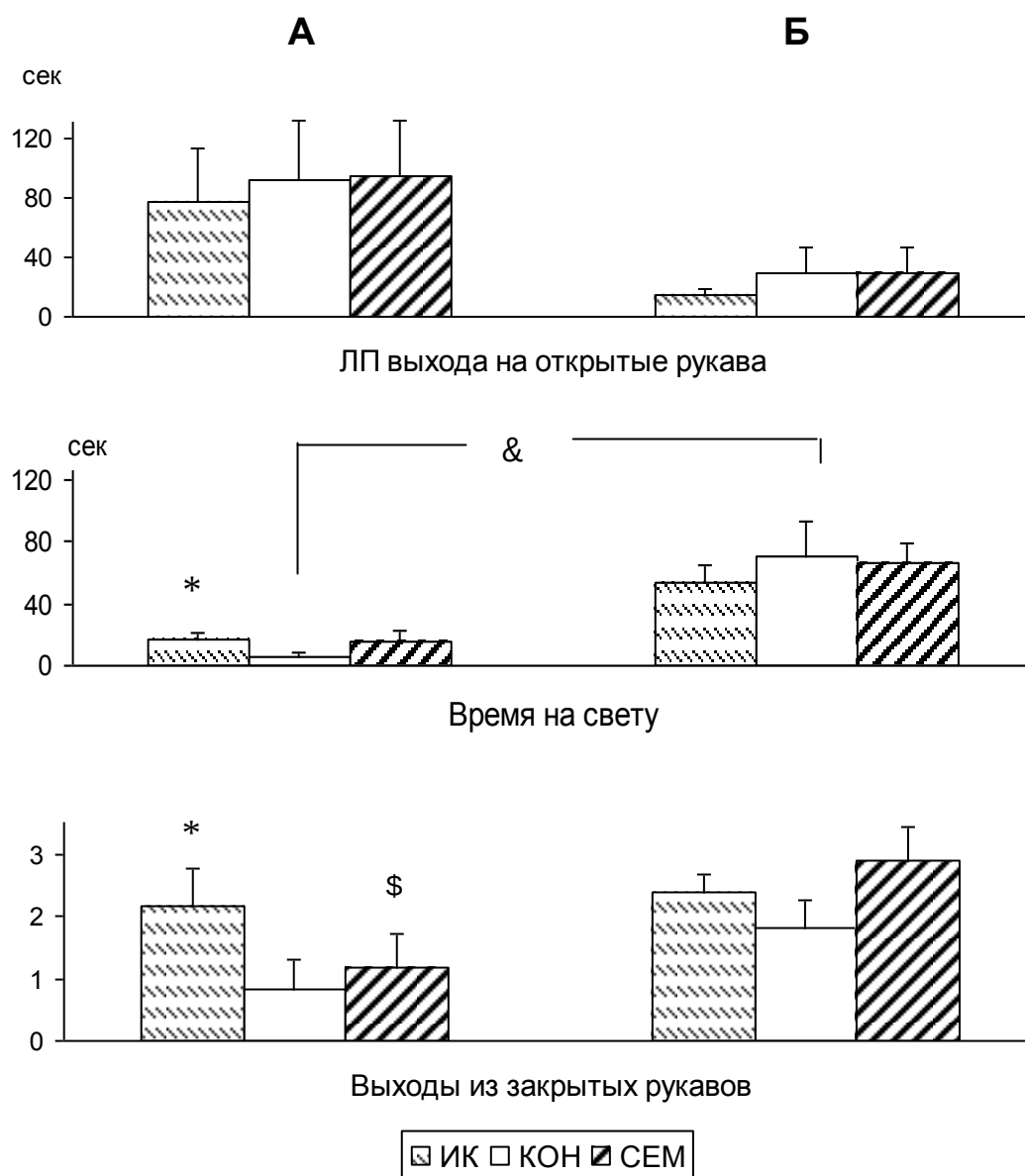


Рис. 14.1. Влияние семакса на параметры поведения в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” на 31 ПНД в условиях высокой (А) и низкой (Б) стрессорной нагрузки. Семакс вводили и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 дни жизни крыс. Число животных в группе: А – n (ИК)=6; n (КОН)=6; n (Сем)=6; Б – n (ИК)=10; n (КОН)=10; n (Сем)=10. Значимые отличия между контрольными группами ($p < 0.01$) отмечены &, значимые отличия от соответствующего контроля ($p < 0.05$) отмечены *, от группы “ИК” ($p < 0.05$) – \$.

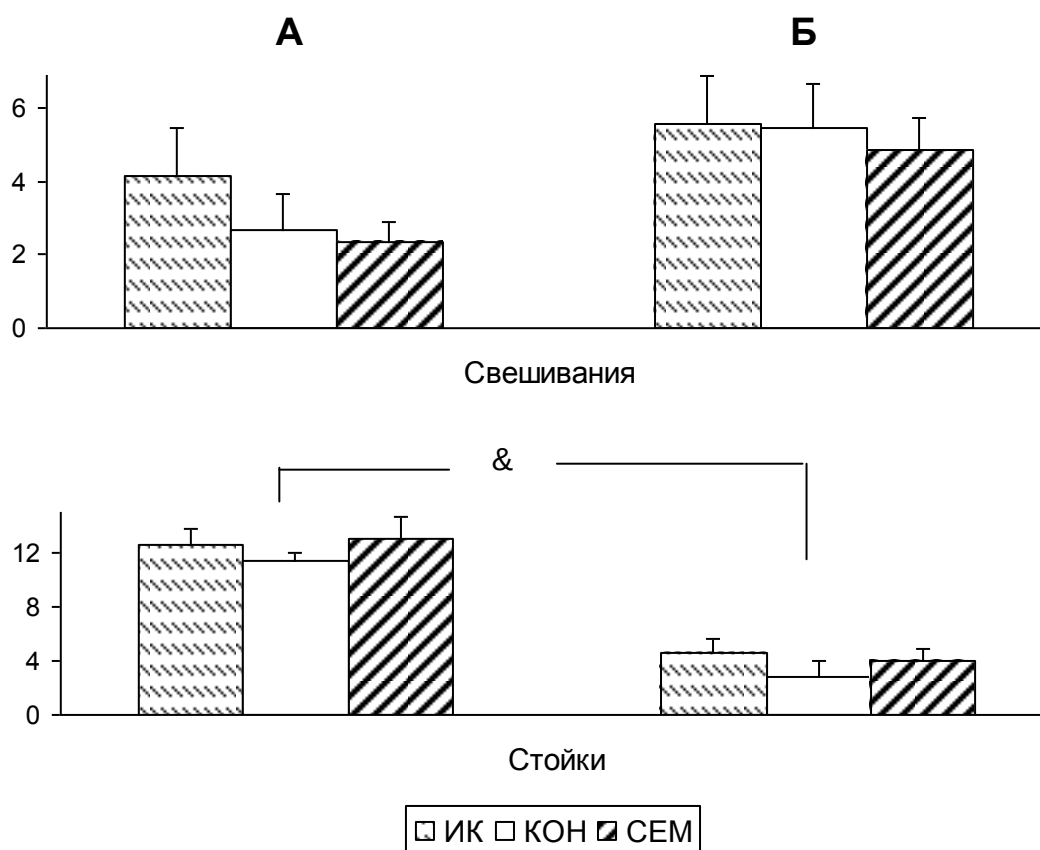


Рис. 14.2. Влияние семакса на параметры поведения в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” на 31 ПНД в условиях высокой (А) и низкой (Б) стрессорной нагрузки. Обозначения, как на рис. 14.1.

тесте ПКЛ в условиях повышенной стрессорной нагрузки. В условиях однородного неяркого освещения параметры поведения животных этой группы не отличаются от интактного контроля. Последующее введение семакса животным, получавшим в/б инъекции растворителя, приближает показатели поведения крыс в ПКЛ к значениям интактного контроля, но не снимает полностью эффекты экспериментальных манипуляций.

2.3. Влияние флувоксамина и семакса на содержание биогенных аминов и их метаболитов в мозге крыс в возрасте 1 месяца.

Измерение содержания биогенных аминов и их метаболитов в мозге крыс проводили на 32 ПНД. Для измерения были использованы животные одиннадцати выводков (7 выводков делили на группы: “КОН”, ”ФА” и ”ФА-Сем”; 5 выводков – “КОН”, ”ИК” и ”Сем”). В каждом выводке было 3-4 крысы из каждой группы. Результаты представлены в таблице (табл. 3).

Таблица 3. Содержание биогенных аминов и их метаболитов (нмоль/г ткани) в различных отделах мозга крыс в возрасте 31 ПНД.

	Фронтальная кора				Гиппокамп				Гипоталамус				Стриатум			
	КОН	ФА	ФА-С	F (p)	КОН	ФА	ФА-С	F (p)	КОН	ФА	ФА-С	F (p)	КОН	ФА	ФА-С	F (p)
НА	0.97 ± 0.11	1.05 ± 0.14	1.05 ± 0.13	0.18 (0.84)	1.85 ± 0.19	1.69 ± 0.08	1.52 ± 0.10	0.18 (0.84)	10.45 ± 0.62	10.30 ± 0.78	10.98 ± 0.89	0.27 (0.76)	0.51 ± 0.05	0.56 ± 0.06	0.57 ± 0.05	0.19 (0.82)
ДА	0.39 ± 0.07	0.30 ± 0.04	0.41 ± 0.07	0.96 (0.39)	0.16 ± 0.05	0.17 ± 0.04	0.18 ± 0.04	0.96 (0.39)	2.48 ± 0.23	3.02 ± 0.48	2.63 ± 0.27	0.67 (0.52)	35.87 ± 3.13	32.35 ± 1.66	29.07 ± 1.99	2.17 (0.12)
ДОФУК	0.20 ± 0.10	0.14 ± 0.03	0.13 ± 0.03	0.26 (0.77)	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.02 ± 0.01	0.26 (0.77)	0.38 ± 0.07	0.45 ± 0.11	0.33 ± 0.04	0.45 (0.64)	3.57 ± 0.31	3.31 ± 0.16	3.09 ± 0.21	0.94 (0.40)
ГВК	0.15 ± 0.07	0.15 ± 0.04	0.17 ± 0.04	0.05 (0.95)	0.09 ± 0.02	0.10 ± 0.04	0.06 ± 0.01	0.05 (0.95)	0.40 ± 0.09	0.47 ± 0.16	0.39 ± 0.09	0.10 (0.91)	2.79 ± 0.26	2.66 ± 0.15	2.49 ± 0.15	0.59 (0.56)
5-НТ	3.62 ± 0.47	3.74 ± 0.50	4.07 ± 0.47	0.24 (0.79)	2.46 ± 0.23	2.52 ± 0.28	2.09 ± 0.17	0.24 (0.79)	11.03 ± 1.07	11.12 ± 1.21	11.90 ± 1.22	0.24 (0.79)	2.36 ± 0.07	2.66 ± 0.10	2.39 ± 0.08	3.70 (0.03)
5-ГИУК	0.93 ± 0.13	0.95 ± 0.12	1.04 ± 0.09	0.31 (0.73)	1.37 ± 0.16	1.56 ± 0.22	1.42 ± 0.17	0.31 (0.73)	4.11 ± 0.42	4.52 ± 0.50	4.84 ± 0.47	0.84 (0.44)	2.09 ± 0.14	2.31 ± 0.07	2.19 ± 0.10	4.37 (0.02)
	ИК	КОН	Сем	F (p)	ИК	КОН	Сем	F (p)	ИК	КОН	Сем	F (p)	ИК	КОН	Сем	F (p)
НА	1.08 ± 0.17	1.00 ± 0.13	1.02 ± 0.16	0.06 (0.94)	1.60 ± 0.10	1.65 ± 0.20	1.54 ± 0.14	0.31 (0.73)	11.32 ± 1.31	10.65 ± 1.05	10.79 ± 1.36	0.07 (0.94)	0.44 ± 0.06	0.47 ± 0.08	0.62 ± 0.18	0.35 (0.71)
ДА	0.33 ± 0.04	0.29 ± 0.05	0.30 ± 0.06	0.18 (0.84)	0.12 ± 0.03	0.13 ± 0.03	0.09 ± 0.02	1.15 (0.33)	2.72 ± 0.40	3.12 ± 0.49	3.07 ± 0.52	0.15 (0.86)	30.92 ± 1.92	32.89 ± 1.99	34.22 ± 2.24	0.80 (0.45)
ДОФУК	0.12 ± 0.02	0.19 ± 0.05	0.12 ± 0.02	2.01 (0.16)	0.02 ± 0.01	0.03 ± 0.02	0.01 ± 0.01	0.92 (0.41)	0.37 ± 0.09	0.41 ± 0.09	0.34 ± 0.07	0.33 (0.72)	3.13 ± 0.17	3.30 ± 0.15	3.35 ± 0.13	0.57 (0.57)
ГВК	0.11 ± 0.03	0.12 ± 0.03	0.10 ± 0.03	0.13 (0.88)	0.10 ± 0.04	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.03	0.45 (0.64)	0.39 ± 0.09	0.41 ± 0.09	0.31 ± 0.08	0.28 (0.76)	2.55 ± 0.17	2.53 ± 0.16	2.69 ± 0.18	0.34 (0.71)
5-НТ	4.01 ± 0.53	3.60 ± 0.50	3.89 ± 0.58	0.13 (0.88)	2.23 ± 0.23	2.68 ± 0.52	2.86 ± 0.62	0.28 (0.76)	12.08 ± 1.58	12.35 ± 1.56	12.19 ± 1.99	0.01 (0.99)	2.62 ± 0.12	2.58 ± 0.07	2.46 ± 0.06	0.71 (0.50)
5-ГИУК	0.89 ± 0.09	0.84 ± 0.09	0.83 ± 0.08	0.24 (0.79)	1.23 ± 0.16	1.26 ± 0.23	1.33 ± 0.24	0.01 (0.99)	4.56 ± 0.63	4.12 ± 0.54	3.86 ± 0.64	0.30 (0.74)	2.03 ± 0.13	2.15 ± 0.07	2.02 ± 0.08	0.49 (0.62)

При исследовании влияния флувоксамина на содержание биогенных аминов применение ANOVA метода не выявило достоверного влияния фактора ‘пол’ на регистрируемые показатели ($F_{1,58} < 2.50$; $p > 0.13$), а также значимого взаимодействия факторов ‘пол’ и ‘группа’. При этом было отмечено достоверное влияние фактора ‘группа’ на содержание 5-НТ ($F_{2,57} = 3.70$, $p < 0.04$) и его метаболита ($F_{2,57} = 4.37$, $p < 0.02$) в стриатуме. Кроме того, отмечалось значимое влияние фактора ‘выводок’ на большинство показателей ($F(6,43) > 2.50$, $p < 0.04$), при этом достоверного взаимодействия факторов ‘группа’ и ‘выводок’ не наблюдалось.

При оценке влияния экспериментальных манипуляций и собственных эффектов неонатального введения семакса не было выявлено достоверного влияния факторов ‘пол’ ($F_{1,42} < 2.90$, $p > 0.12$) и ‘группа’ ($F_{2,42} < 1.10$, $p > 0.30$) на содержание биогенных аминов, а также значимого взаимодействия этих факторов. Как и при изучении эффектов флувоксамина, было зарегистрировано достоверное влияние фактора ‘выводок’ на регистрируемые показатели ($F_{4,33} > 2.60$, $p < 0.04$).

Достоверное влияние фактора выводок в двух сериях экспериментов указывает на вариабельность показателей в разных выводках. Чтобы исключить влияние этого фактора значения параметров для каждого вывода нормировали к собственному контролю.

Анализ нормированных данных показал значимое увеличение уровня 5-НТ в гиппокампе и стриатуме, уровня 5-ГИУК в гиппокампе, гипоталамусе и стриатуме, отношения 5-ГИУК/5-НТ в гиппокампе и гипоталамусе, а также снижение содержания ДА во фронтальной коре в группе ‘ФА’ по сравнению с контролем (рис. 15). В группе ‘ФА-Сем’ было зарегистрировано достоверное увеличение содержания 5-ГИУК во фронтальной коре, гиппокампе и гипоталамусе, отношения 5-ГИУК/5-НТ в гиппокампе и гипоталамусе, а также снижение содержания ДА в стриатуме относительно контрольных значений. Кроме того, в группе ‘ФА-Сем’ отмечалось достоверное снижение содержания 5-НТ в гиппокампе и стриатуме по сравнению с группой ‘ФА’.

В группе ‘ИК’ было зарегистрировано значимое увеличение уровня ДА и НА во фронтальной коре относительно соответствующего контроля, по остальным показателям достоверных отличий отмечено не было (рис. 16). Между группами ‘Сем’ и ‘ИК’, а также ‘Сем’ и ‘КОН’ достоверных отличий не наблюдалось.

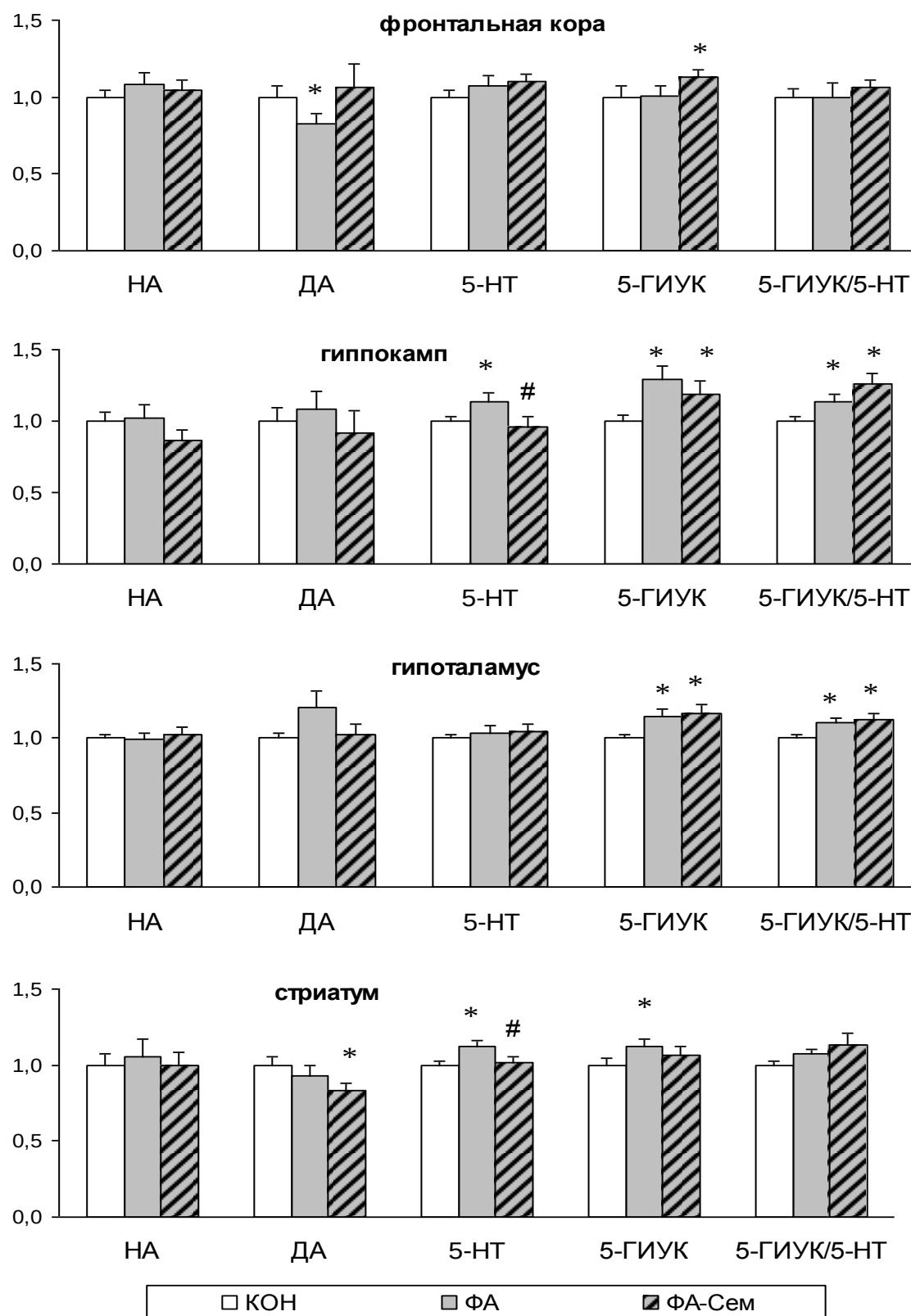


Рис. 15. Влияние флувоксамина и семакса на содержание биогенных аминов и их метаболитов в структурах мозга крыс в возрасте 32 дня. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мкг/кг с 15 по 28 ПНД. Число животных в группе: n (КОН)=21; n (ФА)=20; n (ФА-Сем)=23. Значимые отличия от группы “КОН” ($p < 0.05$) отмечены *; от группы “ФА-Сем” ($p < 0.05$) – #.

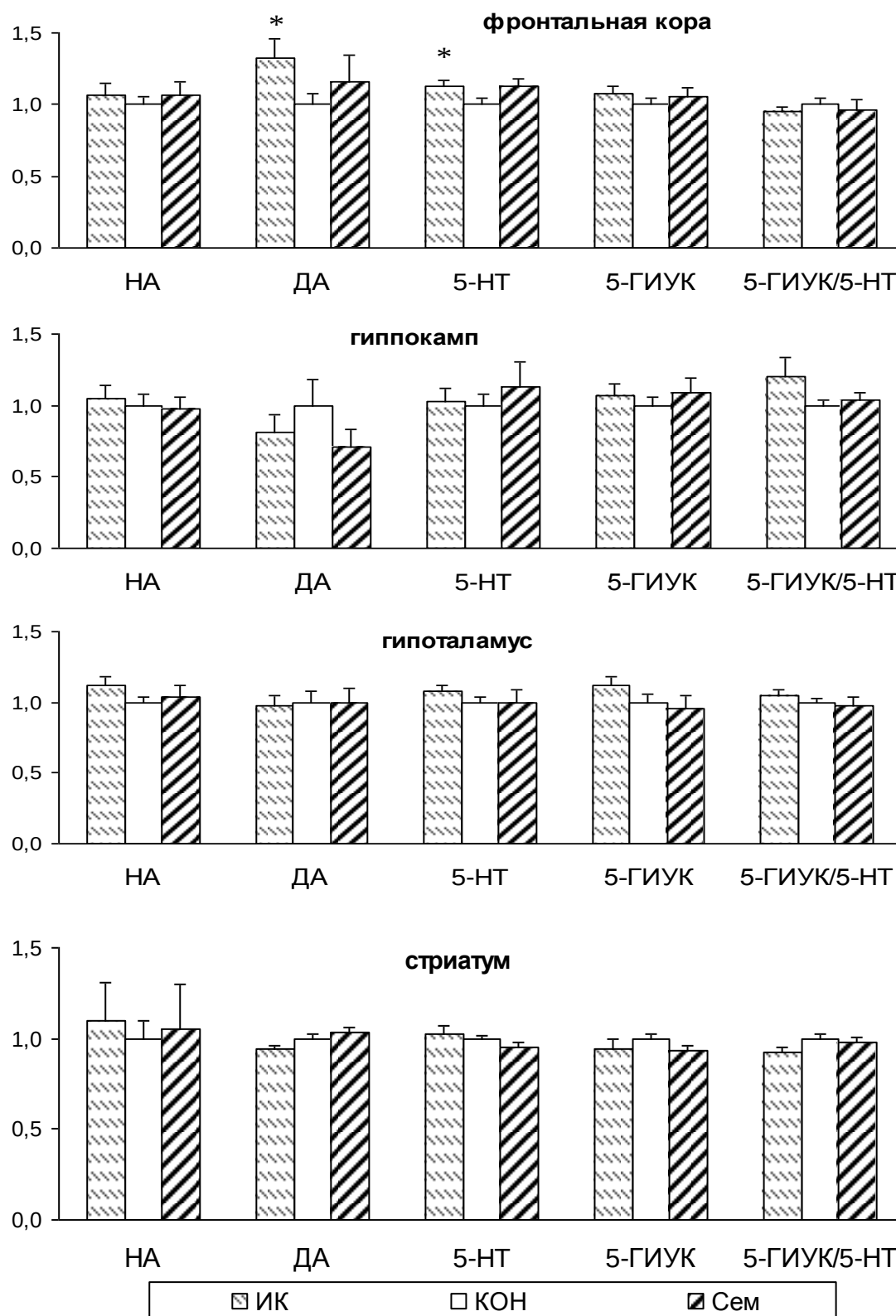


Рис. 16 Влияние семакса на содержание биогенных аминов и их метаболитов в структурах мозга крыс в возрасте 32 дня. Семакс вводили и/н в дозе 0.05 мкг/кг с 15 по 28 ПНД. Число животных в группе: n (ИК)=16; n (КОН)=16; n (Сем)=16. Значимые отличия от группы "КОН" ($p < 0.05$) отмечены - *.

2.4. Обсуждение результатов

Во второй части работы представлены данные по физическому развитию, поведению и состоянию системы биогенных аминов мозга крыс в возрасте от 15 до 32 дней, т.е. после окончания курса ФА и на фоне введения семакса. Для оценки влияния использованных экспериментальных манипуляций и собственных эффектов семакса проводили отдельную серию экспериментов.

Оценка изменения массы тела крыс с 15 по 32 дни жизни не выявила влияния экспериментальных манипуляций и семакса на скорость соматического роста животных. Изучение уровня тревожности и исследовательской активности показало, что в условиях низкой стрессорной нагрузки (ОП и ПКЛ при равномерном слабом освещении) параметры поведения крыс групп “ИК”, “КОН” и “Сем” не отличаются друг от друга. Однако в условиях повышенной стрессорной нагрузки (ПКЛ при ярком освещении открытых рукавов) интактные животные проявляли меньшую тревожность, чем крысы контрольной группы. В группе крыс, которым с 15 по 28 дни жизни вводили семакс, параметры поведения приближались к показателям интактного контроля, однако значимых отличий между группами “Сем” и “КОН” зарегистрировано не было. Изучение состояния системы биогенных аминов мозга не выявило достоверных различий по содержанию медиаторов и их метаболитов в гиппокампе, гипоталамусе и стриатуме между группами “ИК”, “КОН” и “Сем”. Во фронтальной коре было зарегистрировано значимое снижение уровня ДА и 5-НТ в контрольной группе относительно интактного контроля. Введение семакса после курса в/б инъекций растворителя приближало содержание ДА и 5-НТ во фронтальной коре к значениям интактного контроля.

Контрольные животные в течение первых 2-х недель жизни получали ежедневные внутрибрюшинные инъекции, а в 3-4 недели – интраназальные инъекции. Многочисленные данные свидетельствуют о том, что в ранний постнатальный период такие воздействия как взятие в руки, отлучение от матери, болевая стимуляция (введение препаратов), являются для животных стрессогенным воздействием и могут вызывать отставленные изменения поведения [Nyakas et al., 1981; Huot et al., 2002]. В проведенном нами исследовании “контроль” характеризовался сниженной исследовательской активностью и повышенной тревожностью по сравнению с группой “интактный контроль”, что может быть последствием неонатального стресса, вызванного использованными экспериментальными манипуляциями. Кроме того, в контрольной группе крыс относительно интактного контроля отмечалось снижение содержания ДА и 5-НТ во фронтальной коре, структуре, которая играет важную роль в регуляции эмоционального состояния животных. Следовательно, использованные нами

экспериментальные манипуляции в дальнейшем вызывают увеличение тревожности в условиях повышенной стрессорной нагрузки, что может быть связано с изменением содержания биогенных аминов во фронтальной коре крыс. Ранее было показано, что хроническое неонатальное введение семакса приводит в дальнейшем к увеличению исследовательского поведения, снижению тревожности и улучшению обучения крыс как в норме, так и после хронического неонатального стресса [Себенцова и др., 2004; Левицкая и др., 2008; Володина и др., 2011]. Можно предположить, что в проведенных нами экспериментах хроническое интраназальное введение семакса незначительно ослабляет отрицательные последствия неонатального стресса, вызванного использованными экспериментальными манипуляциями.

Регистрация массы тела крыс в возрасте 15-32 дня показала, что в течение 3-ей недели жизни в группах крыс, которым вводили ФА, масса тела отстает от контрольных значений, однако к 30 дню значимых отличий от контроля не наблюдается. В первой части нашей работы было показано, что на фоне неонатального введения ФА замедляется соматический рост крыс. Вероятно, в течение 3-4 недель (после прекращения действия ФА) крысы “догоняют” по массе контрольных животных. При этом в группе “ФА” значимые отличия сохраняются до 28 дня жизни, а в группе “ФА-Сем” – до 22 дня. Следовательно, введение семакса ускоряет нормализацию массы тела крыс, получавших неонатально ФА. Замедление набора веса было зарегистрировано многими исследователями на фоне неонатального введения разных препаратов группы СИОЗС [Deiró et al., 2006; 2008; Karpova et al., 2009]. Во многих работах также было показано снижение массы тела у взрослых мышей и крыс (в возрасте 2-4 месяца), получавших неонатально СИОЗС [Hansen et al., 1997; Karpova et al., 2009; Kummet et al., 2012; Harris et al., 2012]. Однако в известной нам литературе нет данных по изменению массы тела грызунов сразу после прекращения введения СИОЗС.

Нами проводилась оценка уровня тревожности крыс в тестах “открытое поле” и “приподнятый крестообразный лабиринт” при разных уровнях стрессорной нагрузки. В зависимости от условий эксперимента у животных в группе “ФА” нами было зарегистрировано как увеличение тревожности и снижение исследовательского поведения, так снижение тревожности и увеличение исследовательской активности. Изменение эмоционального состояния у грызунов после неонатального введения СИОЗС отмечено во многих исследованиях, но регистрация уровня тревожности проводилась только у животных в возрасте 3-4 месяца [Ansorge et al., 2004; Karpova et al., 2009; Harris et al., 2012]. Влияние неонатального введения СИОЗС на поведение грызунов в препубертатный период ранее не исследовалось. Проведенные нами эксперименты

показали, что направленность изменений уровня тревожности животных, получавших неонатально ФА, зависит от условий эксперимента. В условиях, провоцирующих реакцию тревоги и страха, крысы группы “ФА” демонстрируют повышенный уровень тревожности по сравнению с контролем. В условиях низкой стрессорной нагрузки, стимулирующих исследовательское поведение, у животных группы “ФА” наблюдается повышение исследовательской активности. Можно заключить, что неонатальное введение ФА приводит к повышению реакции на внешние раздражители у крыс в препубертатном периоде.

При измерении уровня биогенных аминов в различных структурах мозга было показано, что неонатальные инъекции ФА приводят к повышению содержания 5-НТ, 5-ГИУК и соотношения 5-ГИУК/5-НТ у крыс в возрасте 1 месяца. Т.е., через 18 дней после окончания курса ФА у животных сохраняется повышенная активность 5-НТ системы. Согласно клиническим данным, резкое прекращение приема препаратов группы СИОЗС вызывает синдром отмены, который включает в себя такие симптомы, как психомоторное возбуждение, тревожность, раздражительность, нарушения сна, головокружение, и др. [Renoir, 2013]. Эти симптомы отмечаются через 1-7 дней после отмены препарата [Bosker et al., 2010]. Вероятным механизмом этого синдрома является возрастание активности 5-НТ системы мозга. Исследования, проведенные на взрослых животных, показали, что после окончания хронического введения СИОЗС наблюдается увеличение содержания метаболита серотонина и соотношения 5-ГИУК/5-НТ в различных отделах мозга крыс [Stenfors, Ross, 2002; Bosker et al., 2010; Renoir, 2013]. В зависимости от длительности действия препарата эффект развивается через 48-72 час после последней инъекции и сохраняется до 2-3 недель [Trouvin, 1993; Stenfors, Ross, 2002].

Таким образом, проведенные нами исследования показали, что введение ФА с 1 по 14 дни жизни крыс приводит к возрастанию реакции на стимулы внешней среды у животных в возрасте 1 месяца. Кроме того, у крыс наблюдается увеличение содержания серотонина и скорости его оборота. Повышение реакции на внешние раздражители у крыс, получавших ФА, возможно связано с избыточной активностью 5-НТ системы мозга. Известно, что избыток серотонина приводит к импульсивному поведению и снижению аппетита [Ansorge et al., 2004; Karpova et al., 2009; Frick et al., 2015]. Инъекции семакса практически не влияли на уровень метаболизма серотонина, однако снижали его содержание в мозге до контрольных значений. Можно предположить, что в основе компенсирующего влияния семакса на эмоциональное состояние крыс лежит нормализация содержания серотонина в мозге.

ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ НЕОНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ФЛУВОКСАМИНА НА ФИЗИЧЕСКОЕ РАЗВИТИЕ, ПОВЕДЕНИЕ И СОСТОЯНИЕ СИСТЕМЫ БИОГЕННЫХ АМИНОВ КРЫС В ВОЗРАСТЕ 30-63 ДНЕЙ. ВЛИЯНИЕ СЕМАКСА НА ОТСТАВЛЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ ФЛУВОКСАМИНА

Для изучения эффектов ФА и оценки влияния последующего введения семакса каждый выводок крыс делили на 3 группы:

- 1) “КОН” – крысы с 1 по 14 ПНД получали в/б инъекции воды, с 15 по 28 ПНД – и/н инъекции воды;
- 2) “ФА” – крысы с 1 по 14 ПНД получали в/б инъекции флувоксамина, с 15 по 28 ПНД – и/н инъекции воды;
- 3) “ФА-Сем” – с 1 по 14 ПНД получали в/б инъекции флувоксамина, с 15 по 28 ПНД – и/н инъекции семакса (0.05 мг/кг).

3.1. Влияние флувоксамина и семакса на показатели физического развития крыс.

В качестве показателей физического развития рассматривали скорость соматического роста крыс и уровень их физической выносливости.

3.1.1. Влияние флувоксамина и семакса на изменение массы тела крыс

Измерение массы тела крыс в течение второго месяца жизни проводили еженедельно. Как указывалось в главе 2, в конце первого месяца жизни крысы трех экспериментальных групп значимо не отличались по массе тела. В возрасте 28 дней масса тела животных групп “КОН”, “ФА” и “ФА-Сем” составляла 77.8 ± 2.4 г., 76.4 ± 2.6 г. и 76.1 ± 2.4 г., соответственно. Во всех экспериментальных группах наблюдалось достоверное возрастание массы тела с 28-го по 63 ПНД ($F_{5,420}=1968.3$; $p<0.001$). Применение ANOVA метода также показало значимое влияние фактора “пол” на изменение массы животных ($F_{1,84}=28.3$, $p<0.001$), однако значимого взаимодействия факторов “группа” и “пол” отмечено не было ($F_{2,84}=0.90$, $p>0.40$). Нами не было зарегистрировано достоверное влияние фактора “группа” на массу тела крыс ($F_{2,84}=1.40$, $p>0.25$), но наблюдалось достоверное взаимодействие факторов “группа” и “возраст” ($F_{10,420}=1.90$, $p<0.05$), что указывает на различную динамику возрастания массы тела в группах (рис. 17). Дальнейший анализ показал, что с 28 по 63 ПНД масса животных группы “ФА” была достоверно ниже контрольных значений ($F_{5,280}=3.64$, $p<0.01$). Крысы группы “ФА-Сем” по массе тела значимо от контроля не отличались ($F_{5,285}=0.20$, $p>0.97$), при этом их вес превышал соответствующие значения в группе “ФА”, однако это отличие не достигало уровня достоверности ($F_{5,275}=2.02$, $p<0.08$). В период с 35 по 56 ПНД крысы группы “ФА-Сем” значимо опережали по массе животных группы “ФА” ($F_{4,220}=3.07$, $p<0.02$).

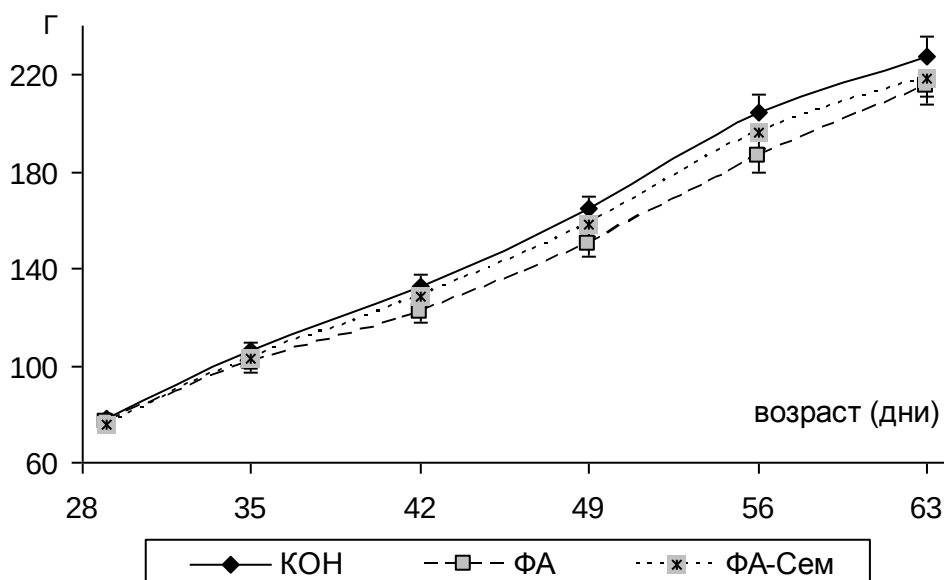


Рис. 17. Изменение массы тела крыс с 30 по 63 дни жизни. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 ПНД. По оси абсцисс – возраст крыс, по оси ординат – масса тела. Число животных в группе: n (КОН)=31; n (ФА)=29; n (ФА-Сем)=30.

Анализ изменений массы тела в подгруппах самцов и самок показал, что у самцов группы “ФА” масса тела значимо ниже контрольных значений ($F_{4,120}=3.80$, $p<0.01$), у самок этой группы отмечалась тенденция к снижению массы относительно контроля ($F_{4,104}=2.12$, $p<0.09$) (рис. 18). Как самцы, так и самки группы “ФА-Сем” не отличались по массе от контроля ($F_{4,112}=0.60$, $p=0.67$ и $F_{4,112}=0.11$, $p=0.98$, соответственно). При этом в подгруппе самцов значимых отличий между группами “ФА” и “ФА-Сем” зарегистрировано не было ($F_{4,104}=1.14$, $p<0.34$), а в подгруппе самок масса крыс в группе “ФА-Сем” была больше, чем в группе “ФА”, но это отличие не достигало уровня значимости ($F_{4,112}=2.33$, $p<0.07$).

Таким образом, введение флувоксамина в неонатальный период жизни приводит к оставленному замедлению соматического роста крыс. Этот эффект отмечается у животных обоего пола. Последующее введение семакса ослабляет влияние флувоксамина на массу тела, нормализующее действие семакса больше выражено у самок, чем у самцов крыс.

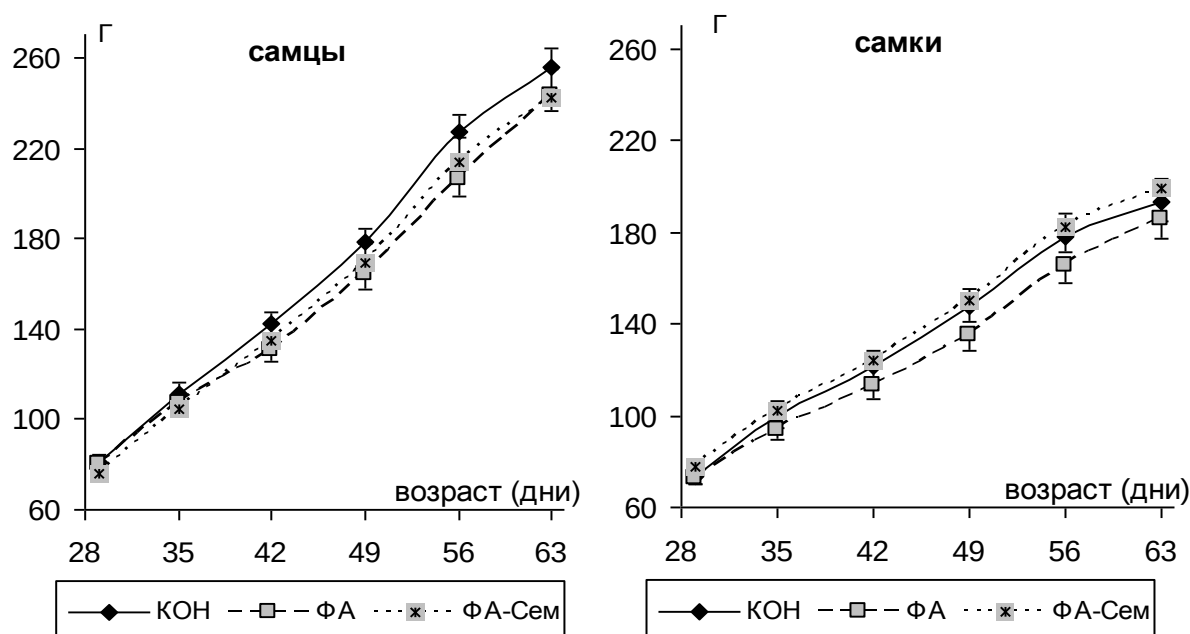


Рис. 18. Изменение массы тела самцов и самок крыс с 30 по 63 дни жизни. Число животных в подгруппе самцов: n (КОН)=17; n (ФА)=15; n (ФА-Сем)=14; в подгруппе самок: n (КОН)=14; n (ФА)=14; n (ФА-Сем)=16.

3.1.2. Оценка уровня физической выносливости крыс в возрасте 33 дня.

Физическую выносливость крыс оценивали в тесте “вращающийся стержень” (Rota-rod). При анализе полученных данных не было выявлено достоверного влияния фактора “группа” ($F_{2,16}=0.35$, $p=0.72$), фактора “пол” ($F_{1,16}=0.06$, $p=0.81$), а также взаимодействия этих факторов ($F_{2,16}=0.61$, $p=0.56$) (рис. 19).

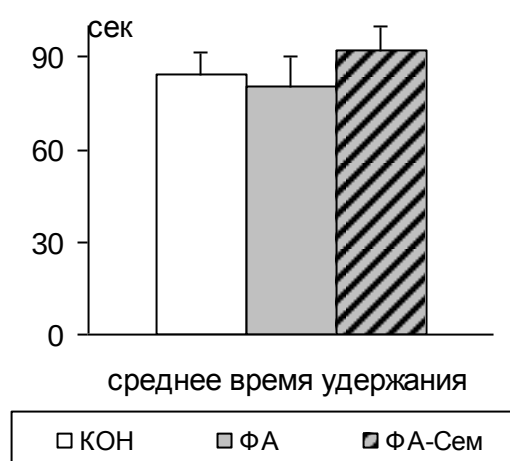


Рис. 19. Оценка физической выносливости крыс в тесте “вращающийся стержень” на 33 день жизни. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 ПНД. Число животных в группе: n (КОН)=7; n (ФА)=6; (ФА-Сем)=9.

Время удержания на вращающемся стержне не отличалось у крыс разных групп. Можно заключить, что неонатальные инъекции флувоксамина, так же как и последующее введение семакса не оказывают влияния на физическую выносливость и координацию движений животных.

3.2. Влияние флувоксамина и семакса на способность крыс к обучению

Влияние неонатального введения флувоксамина и последующего введения семакса на способность животных к обучению с отрицательным и положительным подкреплением оценивали в тесте выработки условного рефлекса пассивного избегания болевого раздражителя (УРПИ) и в тесте выработки условного пищедобывательного рефлекса на место в сложном лабиринте (“сложный лабиринт”) соответственно. Обучение в тесте УРПИ проводили на 34 день жизни, проверку выработки навыка и проверку сохранения навыка на 37 и 41 день жизни соответственно. Обучение в сложном лабиринте проводили с 42 по 46 день жизни, проверку сохранения навыка осуществляли на 53 день жизни.

3.2.1. Влияние флувоксамина и семакса на выработку пищедобывательного рефлекса на место в сложном лабиринте

Использование ANOVA метода не выявило достоверного влияния фактора “пол” на параметры обучения животных ($F_{1,111} < 1.40$, $p > 0.24$), а также взаимодействия факторов “пол” и “группа” ($F_{2,111} < 0.60$, $p > 0.55$). Нами было зарегистрировано значимое влияние фактора “группа” на такие показатели, как количество выполненных реакций (КВР) ($F_{2,111} = 3.76$, $p < 0.03$), ЛП выхода из стартового отсека ($F_{2,111} = 3.18$, $p < 0.05$), уровень груминга ($F_{2,111} = 3.77$, $p < 0.03$) в течение 4-х дней обучения (рис. 20). При проверке сохранения навыка не было выявлено достоверного влияния фактора “группа” на регистрируемые показатели ($F_{2,111} < 1.18$, $p > 0.32$). Дальнейший анализ показал, что в первые два дня обучения у крыс группы “ФА” КВР достоверно ниже, а ЛП, время реакции и уровень груминга достоверно выше контрольных значений ($p < 0.01$, LSD test). В группе “ФА-Сем” регистрируемые параметры не отличались от контроля ($p > 0.15$, LSD test). Кроме того, отмечалась тенденция к возрастанию КВР ($p < 0.06$, LSD test) и снижению груминга ($p < 0.10$, LSD test) в группе “ФА-Сем” относительно группы “ФА”. При проверке сохранения навыка не было зарегистрировано значимых отличий между группами.

Полученные результаты свидетельствуют об ухудшении способности к обучению и повышению тревожности в данном тесте у животных, получавших неонатально флувоксамин. Введение семакса ослабляло негативные эффекты флувоксамина.

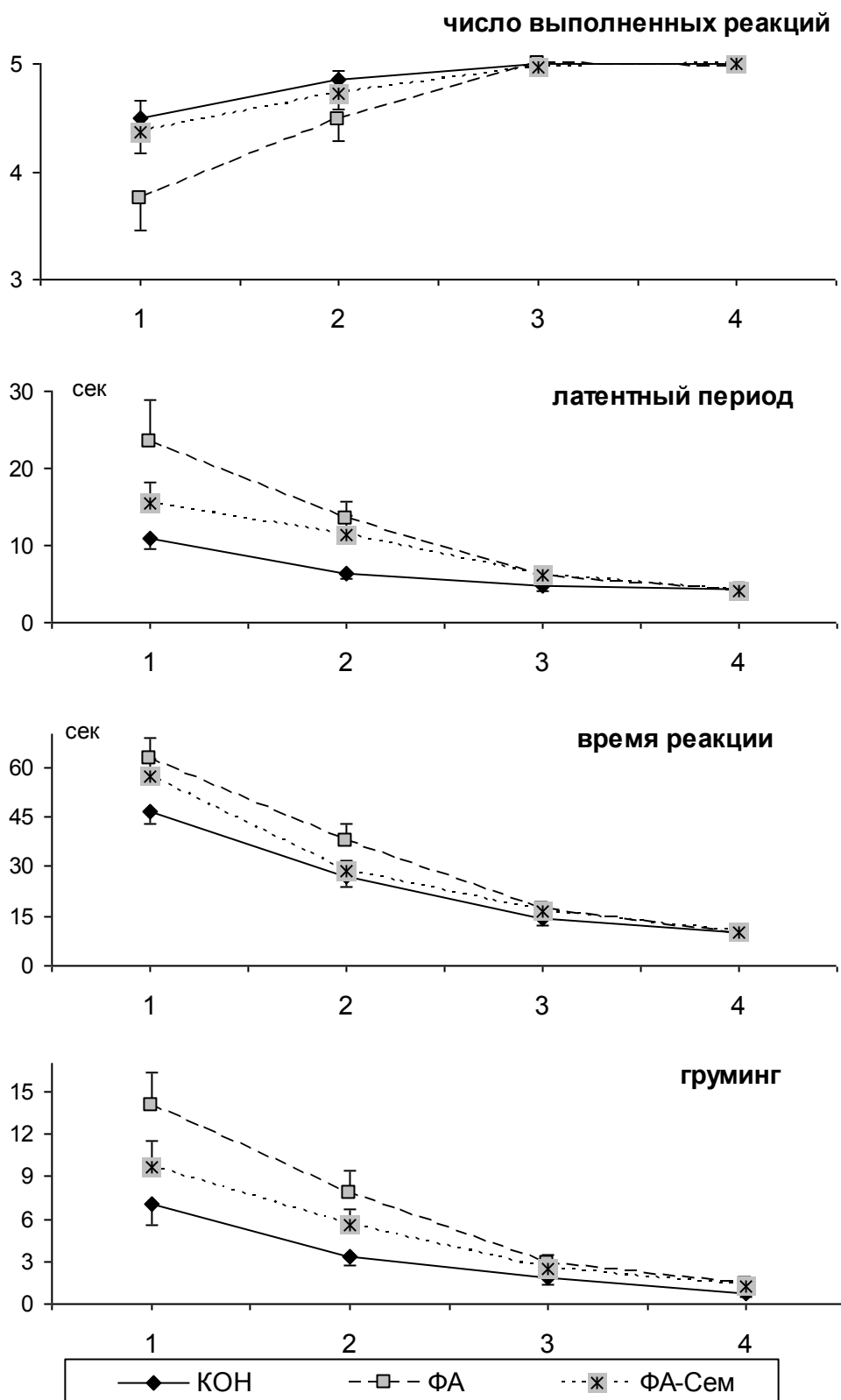


Рис. 20. Влияние флувоксамина и семакса на параметры обучения в сложном лабиринте. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 ПНД. По оси абсцисс – дни обучения. Число животных в группе: n (КОН)=42; n (ФА)=36; (ФА-Сем)=39.

3.2.1. Влияние флувоксамина и семакса на выработку условного рефлекса пассивного избегания болевого раздражителя

При анализе результатов не было выявлено значимого влияния фактора “пол” на параметры обучения ($F_{1,27} < 0.80$, $p > 0.40$), а также взаимодействия факторов “пол” и “группа” ($F_{2,27} < 0.30$, $p > 0.70$). При проверке выработки навыка (через 3 суток после обучения) не было отмечено значимого влияния фактора “группа” на величину латентного периода захода в темный отсек и общее время, проведенное в светлом отсеке ($F_{2,27} = 0.05$, $p < 0.95$ и $F_{2,27} = 0.04$, $p < 0.96$, соответственно). Животных, которые при проверке выработки навыка не заходили в темный отсек камеры, через 7 суток после обучения тестировали на сохранение навыка. При этом не было отмечено значимого влияния фактора “группа” на общее время, проведенное в светлом отсеке ($F_{2,9} = 0.83$, $p < 0.47$), однако отмечалась тенденция к изменению ЛП захода в темный отсек ($F_{2,9} = 3.52$, $p < 0.08$) (рис. 21). Дальнейший анализ показал, что величина этого показателя в группах “ФА” и “ФА-Сем” значимо ниже контрольных значений ($p < 0.02$, χ^2 тест). Следовательно, неонатальное введение ФА приводило к нарушению сохранения ранее выработанного рефлекса пассивного избегания болевого раздражителя. Введение семакса животным, получавшим ФА, не влияло на данный эффект препарата.

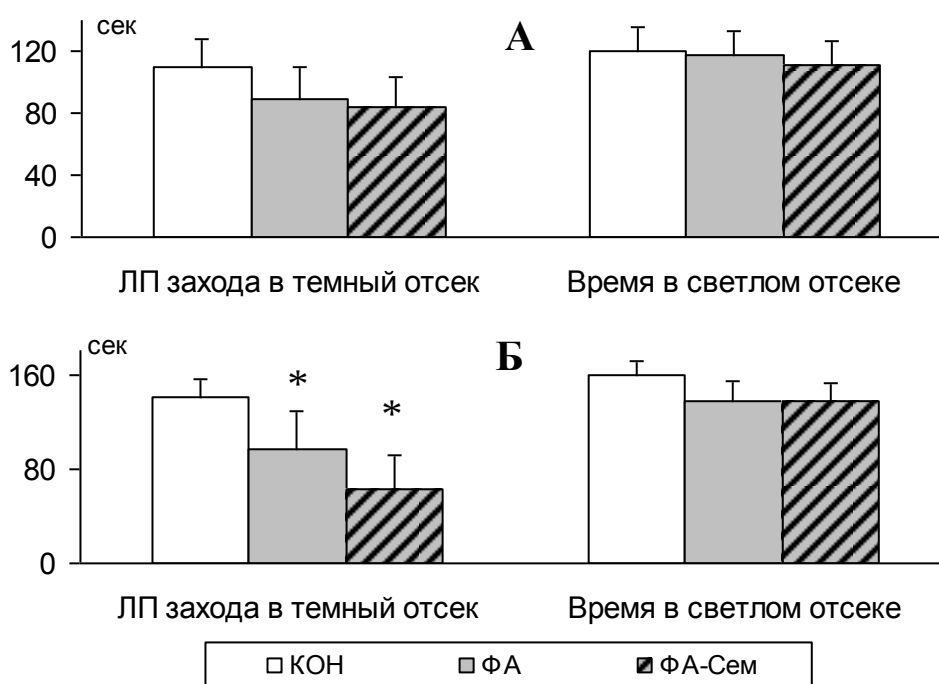


Рис. 21. Влияние флувоксамина и семакса на выработку (А) и сохранение (Б) рефлекса пассивного избегания. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 ПНД. Число животных в группе: n (КОН)=19; n (ФА)=15; (ФА-Сем)=16.

3.3. Влияние флувоксамина и семакса на уровень пищевой мотивации.

Оценку уровня пищевой мотивации проводили на 49 день жизни крыс. Измерение уровня глюкозы в крови животных проводили перед началом тестирования, после 20-часовой пищевой депривации, после 30 минут нахождения в клетке со свободным доступом к пище и через 2 часа после извлечения из клетки со свободным доступом к пище. При оценке изменения уровня глюкозы в крови крыс не было выявлено значимого влияния факторов “группа” ($F_{2,54}=1.39$, $p<0.26$) и “пол” ($F_{1,54}=0.11$, $p<0.74$), а также взаимодействия этих факторов ($F_{2,54}=1.97$, $p<0.15$) (рис. 22).

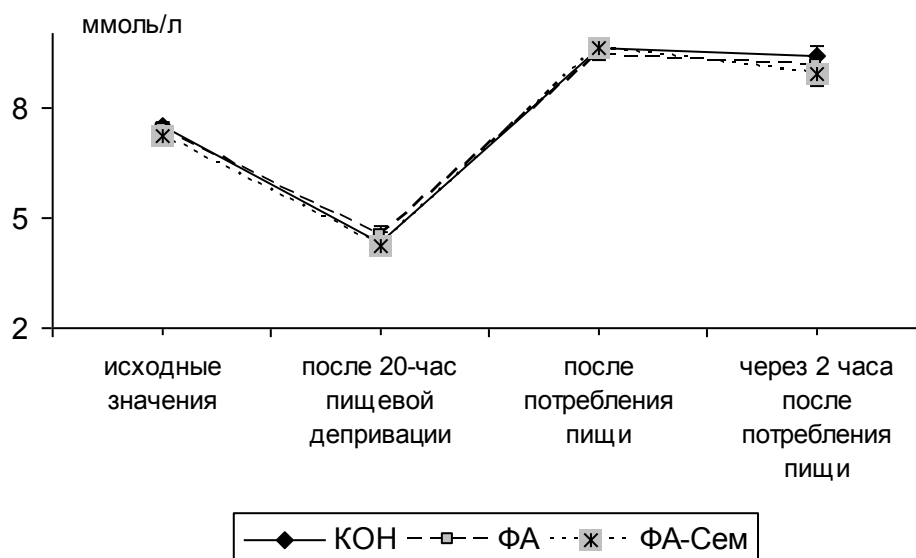


Рис. 22. Влияние флувоксамина и семакса на содержание глюкозы в крови крыс. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 ПНД. Число животных в группе: n (КОН)=21; n (ФА)=18; (ФА-Сем)=20.

При оценке пищевой мотивации было показано значимое влияние фактора “пол” на количество потребленного корма ($F_{2,54}=7.97$, $p<0.01$); у самцов масса съеденного корма была значимо больше, чем у самок ($4.2\pm0,17$ и $3.7\pm0,17$, соответственно). Величина остальных показателей не зависела от пола животных ($F_{2,54}<0.65$, $p>0.40$). При этом для всех показателей, характеризующих уровень пищевой мотивации, методом ANOVA не было выявлено достоверного взаимодействия факторов “пол” и “группа” ($F_{2,54}<1.00$, $p>0.40$), что позволило представить данные совместно для самцов и самок.

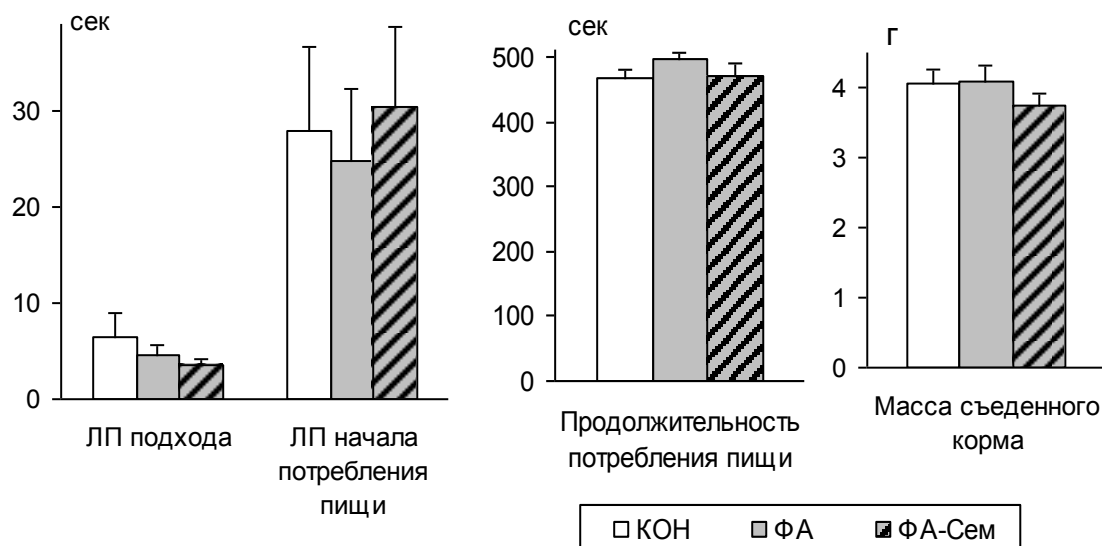


Рис. 23. Влияние флувоксамина и семакса на уровень пищевой мотивации крыс. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 ПНД. Число животных в группе: n (КОН)=21; n (ФА)=18; (ФА-Сем)=20.

Достоверного влияния фактора “группа” на параметры пищевой мотивации отмечено не было ($F_{2,54} < 1.40$, $p > 0.25$) (рис. 23).

Следовательно, неонатальное введение флувоксамина и последующее введение семакса не оказывали влияния на уровень пищевой мотивации и содержание глюкозы в крови животных в возрасте 49 дней.

3.4. Оценка ориентировочно-исследовательской активности и уровня тревожности крыс в возрасте 2 месяца.

Ориентировочно-исследовательскую активность и уровень тревожности животных оценивали в тестах “приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ) на 60 ПНД и “О-образный лабиринт” (О-лаб) на 61 ПНД, а также в стрессогенной модификации теста “открытое поле” (ОП) на 62 ПНД.

3.4.1. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения крыс в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” на 60 день постнатального развития

Уровень тревожности животных в возрасте 60 ПНД оценивали в тесте ПКЛ, при этом, как и в возрасте 31 ПНД, часть животных тестировали в условиях повышенной стрессорной нагрузки, остальных крыс – в условиях незначительной стрессорной нагрузки. Применение ANOVA-метода не показало достоверного влияния фактора “пол”

($F_{1,50} < 2.80$, $p > 0.11$ и $F_{1,55} < 2.80$, $p > 0.12$), а также взаимодействия факторов “пол” и “группа” ($F_{2,50} < 1.55$, $p > 0.23$ и $F_{2,55} < 2.80$, $p > 0.10$) для яркого и рассеянного освещения, соответственно.

Анализ результатов, полученных в ПКЛ в условиях высокой стрессорной нагрузки, не выявил значимого влияния фактора “группа”. Однако отмечалась тенденция к изменению таких показателей, как число выходов из закрытых рукавов ($F_{2,50} = 2.12$, $p = 0.12$) и число стоек ($F_{2,50} = 2.74$, $p = 0.08$). Дальнейший анализ показал, что у животных группы “ФА” наблюдалось достоверное уменьшение времени, проведенного на открытых рукавах, числа выходов из закрытых рукавов лабиринта и числа стоек относительно контрольных значений (рис. 24). По числу свешиваний значимых отличий между группами “КОН” и “ФА” отмечено не было. Параметры поведения в ПКЛ у крыс группы “ФА-Сем” не отличались от контрольных значений. Кроме того, отмечалась тенденция к увеличению времени, проведенного на открытых рукавах, и числа выходов по сравнению с группой “ФА” ($p < 0.07$).

Уменьшение стрессорной нагрузки в тесте ПКЛ, как и при тестировании животных в возрасте 1 месяц, приводило к снижению у животных реакции тревоги и страха. Сравнение параметров поведения крыс контрольных групп в тесте ПКЛ в различных экспериментальных условиях показало, что снижение стрессорной нагрузки приводит к достоверному увеличению времени, проведенного на освещенной части лабиринта и числа свешиваний, а также снижению числа стоек ($p < 0.01$).

Нами не было зарегистрировано достоверного влияния фактора “группа” на параметры поведения крыс в ПКЛ в условиях однородного неяркого освещения. Дальнейший анализ также не выявил достоверных различий между группами (рис. 24).

Таким образом, так же, как и в возрасте одного месяца, при повторном помещении в ПКЛ в возрасте двух месяцев животные, получавшие флувоксамин с 1 по 14 ПНД, в условиях яркого освещения характеризовались повышенным уровнем тревожности и сниженной исследовательской активностью. Введение семакса в течение 3-4 недель постнатального развития нормализовало поведение животных, нарушенное введением флувоксамина. В условиях однородного освещения поведение крыс, которым неонатально вводили флувоксамин и семакс после завершения курса флувоксамина, не отличалось от контроля.

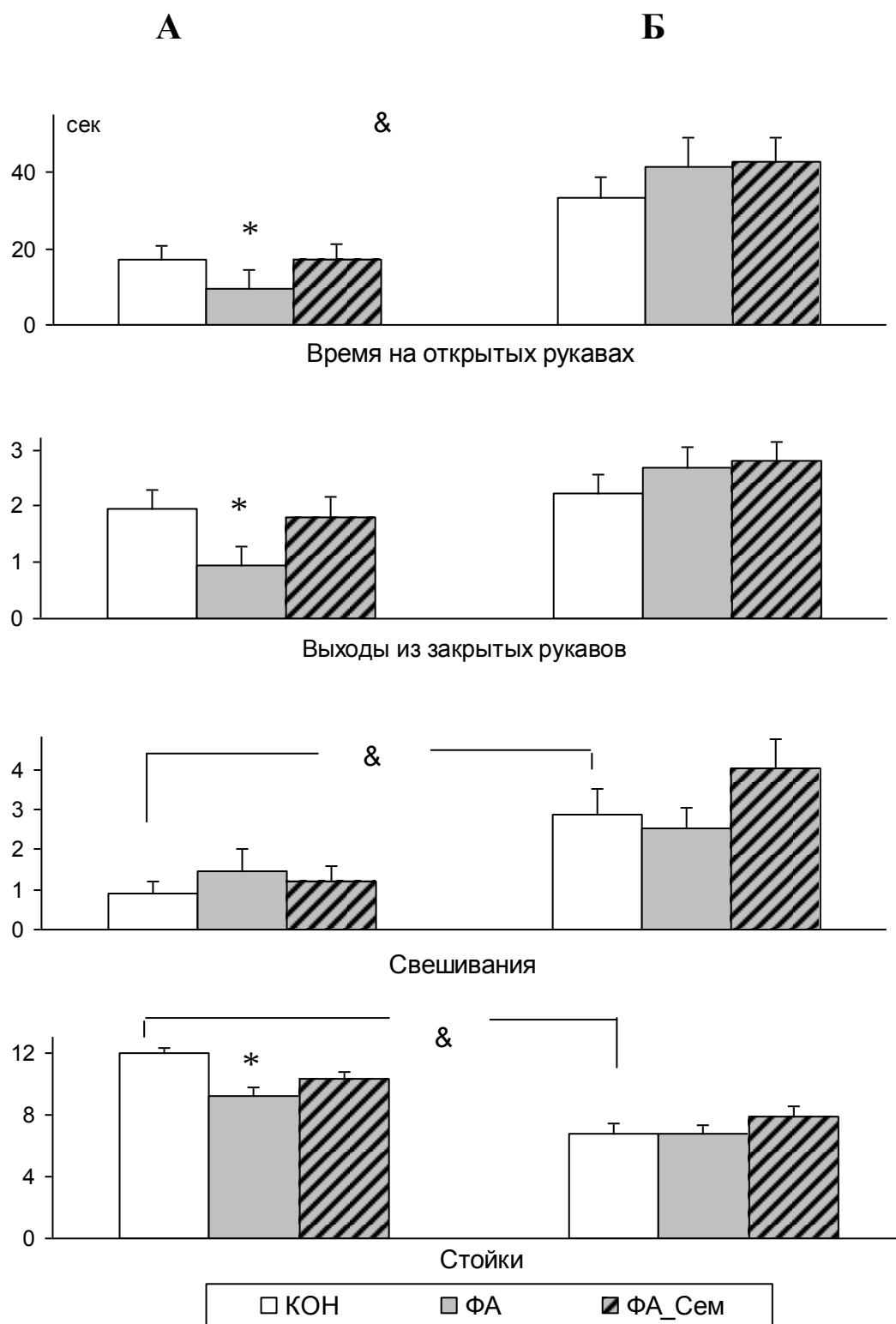


Рис. 24. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” на 60 ПНД в условиях высокой (А) и низкой (Б) стрессорной нагрузки. Число животных в группе: А – n (КОН)=21; n (ФА)=16; n (ФА-Сем)=19; Б – n (КОН)=21; n (ФА)=19; n (ФА-Сем)=19. Значимые отличия между контрольными группами ($p < 0.01$) отмечены &, значимые отличия от соответствующего контроля ($p < 0.05$) отмечены *.

3.4.2. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в О-образном лабиринте на 61 день постнатального развития

Применение метода ANOVA для анализа результатов тестирования в О-лабиринте выявил достоверное влияние фактора “пол” на число стоек ($F_{1,111}=6.09$, $p<0.02$), величина остальных показателей не зависела от пола животных ($F_{1,111}<2.90$, $p>0.10$). Для всех параметров поведения животных не было показано достоверного взаимодействия факторов “пол” и “группа” ($F_{2,111}<1.76$, $p>0.17$), что позволило представить данные совместно для самцов и самок. Анализ результатов, полученных в тесте О-образный лабиринт, не выявил значимого влияния фактора “группа”. Однако отмечалась тенденция к изменению ЛП выхода на открытые сектора ($F_{2,111}=1.92$, $P<0.15$). Величина ЛП в группе “ФА” была ниже, чем в контроле, введение семакса приближало этот показатель к контрольным значениям, однако эти отличия не достигали уровня значимости ($p<0.08$) (рис. 25).

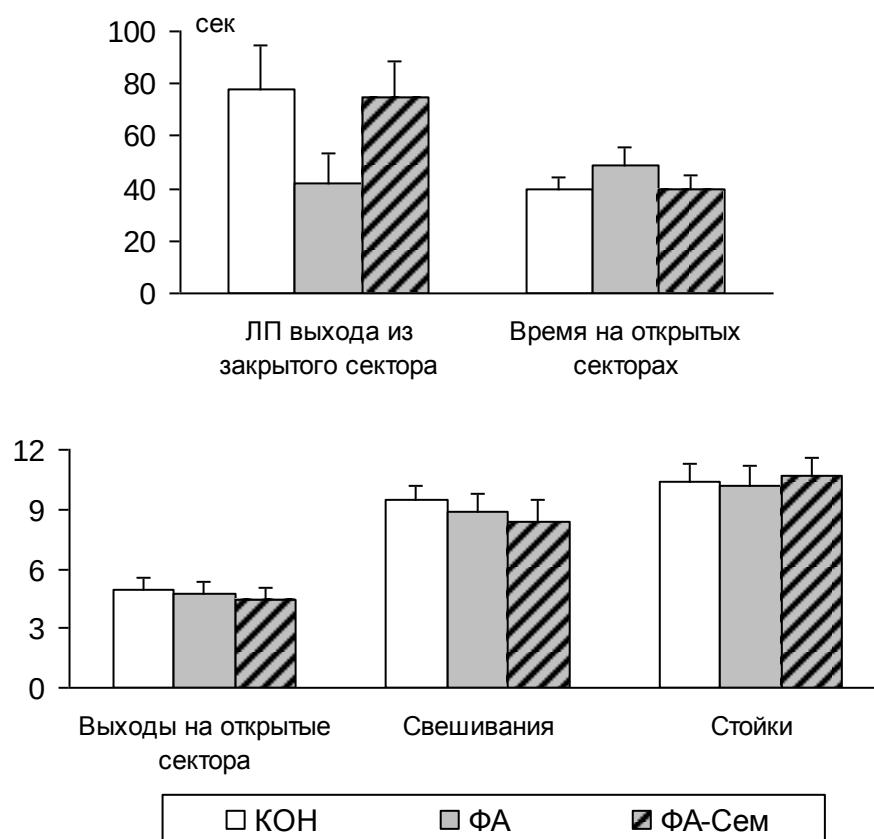


Рис. 25. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в тесте “О-образный лабиринт” на 61 ПНД. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 ПНД. Число животных в группе: n (КОН)=42; n (ФА)=36; n (ФА-Сем)=39.

3.4.3. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в стрессогенной модификации теста ОП на 62 день постнатального развития

При анализе результатов, полученных в стрессогенной модификации теста ОП, не было выявлено значимого влияния фактора “пол” на параметры поведения крыс ($F_{2,112} < 2.70$, $p > 0.11$). Также не наблюдалось достоверного взаимодействия факторов “пол” и “группа” ($F_{2,112} < 1.10$, $p > 0.35$), однако наблюдалась тенденция к взаимодействию этих факторов для величины суммарного пробега ($F_{2,112} = 2.95$, $p < 0.06$). Нами не было зарегистрировано значимого влияния фактора “группа” на параметры поведения крыс в ОП, но отмечалась тенденция к изменению числа стоек в этом тесте ($F_{2,112} = 2.83$, $p < 0.07$). У животных группы “ФА” в стрессогенной модификации ОП было отмечено достоверное увеличение числа стоек по сравнению с контролем. Введение семакса не снимало данный эффект флувоксамина. Также у животных, получавших инъекции флувоксамина, наблюдалась тенденция к повышению ЛП выхода из центра арены ($p < 0.07$). Введение семакса ослабляло данный эффект (рис. 26).

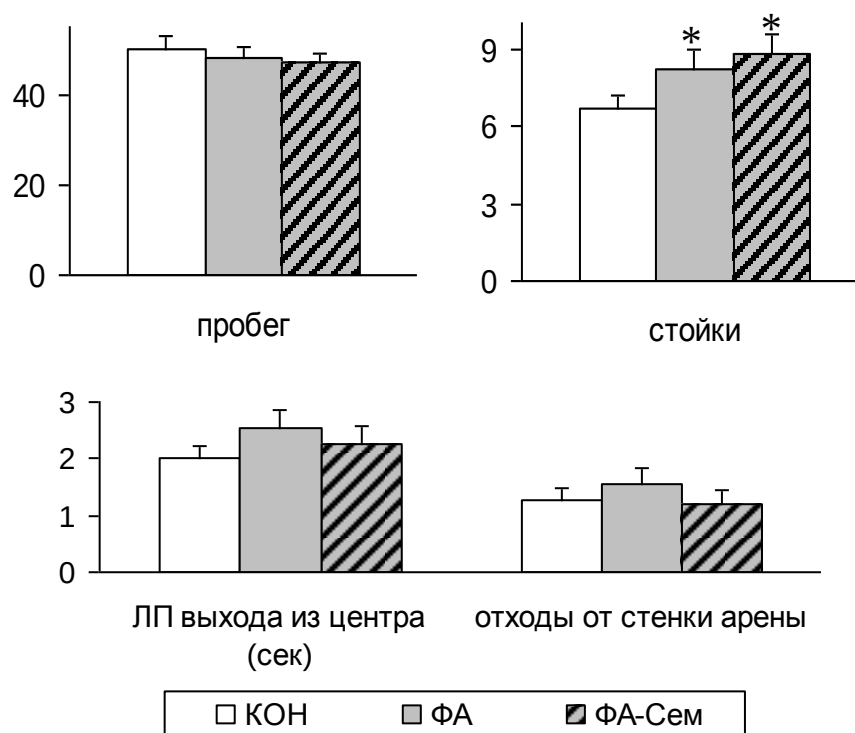


Рис. 26. Влияние введения флувоксамина и введения семакса на параметры поведения в стрессогенной модификации теста “открытое поле” на 62 ПНД. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 ПНД. Число животных в группе: n (КОН)=42; n (ФА)=36; n (ФА-Сем)=40. Значимое отличие от контроля ($p < 0.05$) отмечено *.

Таким образом, в стрессогенной модификации ОП на 62 день жизни, неонатальное введение флувоксамина приводило только к повышению числа стоек. Однако данное возрастание вертикальной двигательной активности животных, вероятно, не связано с увеличением исследовательской активности, т.к. другие показатели, характеризующие уровень ориентировочно-исследовательского поведения (отходы от стенки арены, суммарный пробег) не изменяются. Последующие инъекции семакса не изменяли отставленных эффектов флувоксамина.

3.5. Оценка выраженности депрессивных составляющих поведения крыс

Депрессивные составляющие поведения крыс оценивали в тесте “принудительное плавание” на 55 день жизни и в тесте “предпочтение сахарозы” на 57-58 дни жизни.

3.5.1. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в тесте “принудительное плавание” на 55 день постнатального развития

Исследование влияния флувоксамина и семакса на поведение в тесте “принудительное плавание” было проведено в двух модификациях: были использованы прозрачные цилиндры диаметром 20 см или матовые цилиндры диаметром 35 см. Методом ANOVA не выявлено достоверного влияния фактора “пол” на показатели поведения крыс в разных модификациях теста ($F_{1,51} < 3.70$, $p > 0.06$ и $F_{1,55} < 2.65$, $p > 0.12$), а также значимого взаимодействия факторов “пол” и “группа” ($F_{2,51} < 1.15$, $p > 0.33$ и $F_{2,55} < 1.95$, $p > 0.16$). Это позволило нам представить данные совместно для подгрупп самцов и самок. В экспериментах с малыми цилиндрами было показано значимое влияние фактора “группа” на длительность первого эпизода активного плавания ($F_{2,51} = 3.20$, $p < 0.05$). Во второй модификации теста достоверного влияния фактора “группа” на поведение крыс не было выявлено ($F_{2,55} < 2.40$, $p > 0.11$).

Сравнение параметров поведения контрольных животных в разных модификациях теста показало, что в цилиндрах меньшего диаметра больше суммарная длительность иммобилизации, длительность первого эпизода активного плавания и число эпизодов иммобилизации, активного плавания и клайминга, а также меньше длительность активного плавания, чем при использовании больших цилиндров (рис. 27).

Дальнейший анализ показал, что в первой модификации теста в группе крыс, получавших флувоксамин в течение 1-2 недель жизни, длительность первого эпизода активного плавания значимо больше, чем в контроле. Введение семакса приблизило данный показатель к контрольным значениям. По остальным параметрам поведения в этом тесте значимых отличий между группами отмечено не было (рис. 27).

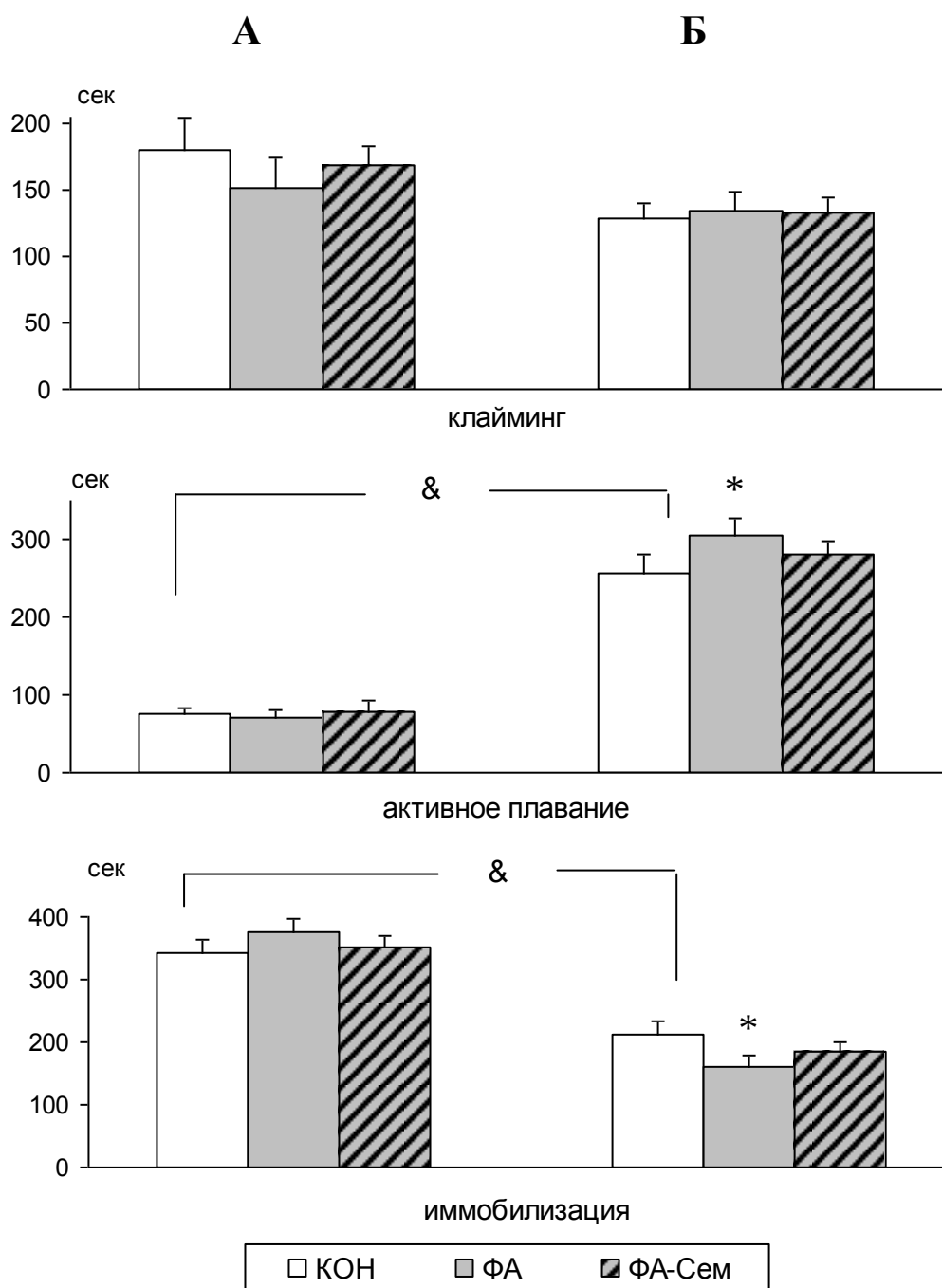


Рис. 27.1. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в тесте “принудительное плавание” на 55 ПНД (диаметр цилиндров: А – 20 см, Б – 35 см). Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 ПНД. Число животных в группе: А – n (КОН)=21; n (ФА)=17; n (ФА-Сем)=19; Б – n (КОН)=21; n (ФА)=19; n (ФА-Сем)=21. Значимые отличия между контрольными группами ($p<0.01$) отмечены &, значимые отличия от соответствующего контроля ($p<0.05$) отмечены *, от группы “ФА” – #.

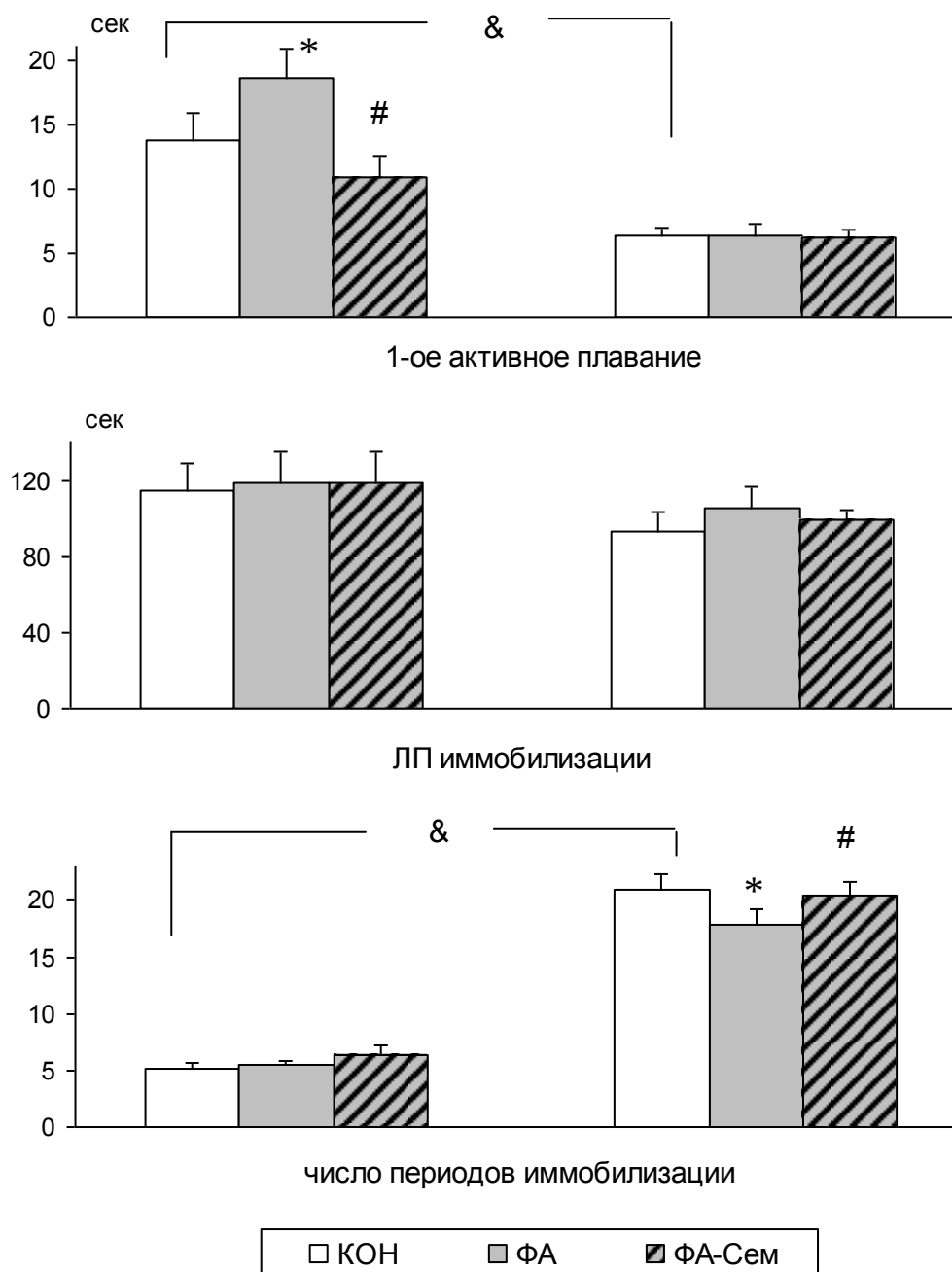


Рис. 27.2. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения в тесте “принудительное плавание” на 55 ПНД (диаметр цилиндров: А – 20 см, Б – 35 см). Обозначения, как на рис. 27.1.

В модификации теста с использованием больших цилиндров в группе “ФА” наблюдалось значимое увеличение длительности активного плавания, снижение длительности иммобилизации и уменьшение числа эпизодов иммобилизации по сравнению с контрольными значениями. Последующее введение семакса нормализовало данные показатели, приближая к значениям в контроле (рис. 27).

Таким образом, оценка поведения крыс в разных модификациях теста “принудительное плавание” показала, что увеличение поверхности цилиндра приводит к значительным изменениям поведения животных – отмечается возрастание активного поведения, при этом увеличивается только активное плавание, но не длительность клайминга. Поведение клайминга связывают со стремлением животного избавиться от неблагоприятных условий, в то время как активное плавание отражает уровень двигательной и исследовательской активности [Shirayama et al., 2002]. У животных, получавших неонатально ФА, при использовании меньших цилиндров зарегистрировано только увеличение длительности первого активного плавания, т.е. исследовательской реакции на помещение в новые стрессогенные условия. В случае больших цилиндров, когда экспериментальные условия стимулируют исследовательское поведение крыс, у крыс группы “ФА” наблюдается увеличение длительности активного плавания, что приводит к уменьшению суммарной иммобилизации. Можно предположить, что наблюдаемые эффекты ФА связаны не со снижением депрессивных компонентов поведения, а с возрастанием двигательной и исследовательской активности в условиях неизбежного стресса. Введение семакса после завершения курса ФА в значительной степени нормализовало поведение животных, получавших неонатально флувоксамин.

3.5.2. Влияние флувоксамина и семакса на параметры поведения крыс в тесте “предпочтение сахарозы” на 58 день постнатального развития

Методом ANOVA не было выявлено достоверного влияния фактора “пол” на показатели поведения крыс в тесте “предпочтение сахарозы” ($F_{1,54} < 3.00$, $p > 0.10$), а также значимого взаимодействия факторов “пол” и “группа” ($F_{2,54} < 2.40$, $p > 0.11$). Нами также не было зарегистрировано достоверного влияния фактора “группа” как на количество потребленной сахарозы ($F_{2,54} = 0.47$, $p = 0.50$), так и на процент раствора сахарозы в общем объеме потребленной жидкости ($F_{2,54} = 0.27$, $p = 0.77$). Дальнейший анализ также не выявил значимых отличий между группами по регистрируемым показателям (рис. 28). Следовательно, неонатальное введение флувоксамина, а также последующее введение семакса не влияют на потребление сладкого раствора в тесте предпочтение сахарозы.

3.6. Влияние флувоксамина и семакса на содержание биогенных аминов и их метаболитов в мозге крыс в возрасте 2 месяца

Измерение содержания биогенных аминов и их метаболитов в мозге крыс проводили на 63 ПНД. Для измерения были использованы животные семи выводков, которые делили на группы “КОН”, ”ФА” и ”ФА-Сем”. В каждом выводке было 3-4 крысы из каждой группы. Результаты представлены в таблице (табл. 4).

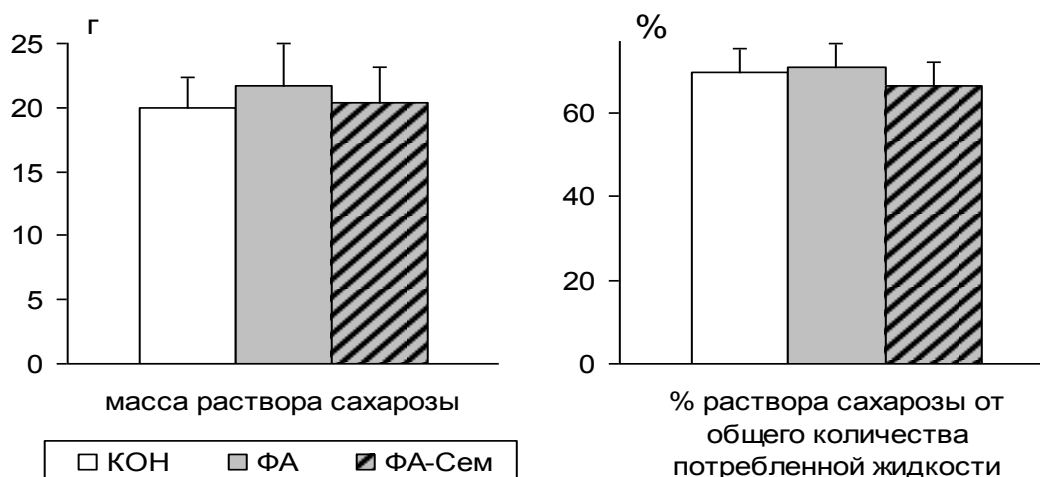


Рис. 28. Влияние флувоксамина и семакса на параметры, регистрируемые в тесте “предпочтение сахарозы”. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс –и/н в дозе 0.05 мг/кг ежедневно с 15 по 28 ПНД. Число животных в группе – n (КОН)=21; n (ФА)=19; n (ФА-Сем)=21.

При оценке содержания биогенных аминов применение ANOVA метода не выявило достоверного влияния фактора “пол” на регистрируемые показатели ($F_{1,54} < 2.70$; $p > 0.11$), а также значимого взаимодействия факторов “пол” и “группа”. Также не было зарегистрировано значимого влияния фактора “группа”, однако отмечалась тенденция к изменению содержания 5-ГИУК в гиппокампе ($F_{2,54} = 2.83$, $p < 0.07$). Кроме того, отмечалось значимое влияние фактора “выводок” на большинство показателей ($F_{6,37} > 2.75$, $p < 0.03$), при этом достоверного взаимодействия факторов “группа” и “выводок” не наблюдалось. Для исключения влияния фактора “выводок” значения параметров для каждого выводка нормировали к собственному контролю.

Дальнейший анализ показал достоверное увеличение содержания НА в гиппокампе и гипоталамусе, уровня 5-ГИУК в гиппокампе, а также отношения 5-ГИУК/5-НТ в гипоталамусе и фронтальной коре в группе “ФА” относительно контроля. Кроме того, у крыс группы “ФА” отмечалась тенденция к снижению уровня серотонина в гипоталамусе ($p < 0.06$) и фронтальной коре ($p < 0.08$) относительно контрольных значений (рис. 29). В группе животных, которым после окончания курса ФА вводили семакс, содержание биогенных аминов и их метаболитов не отличалось от контроля. При этом содержание 5-НТ в гипоталамусе и фронтальной коре было значимо выше, уровень НА в гиппокампе значимо ниже, а в гипоталамусе снижен на уровне тенденции ($p < 0.08$) по сравнению с группой “ФА”.

Таблица 4. Содержание биогенных аминов и их метаболитов (нмоль/г ткани) в различных отделах мозга крыс в возрасте 60 ПНД.

	Фронтальная кора				Гиппокамп				Гипоталамус				Стриатум			
	КОН	ФА	ФА-С	F (p)	КОН	ФА	ФА-С	F (p)	КОН	ФА	ФА-С	F (p)	КОН	ФА	ФА-С	F (p)
НА	0,57± 0,05	0,55± 0,06	0,62± 0,07	1.43 (0.26)	0,92± 0,08	1,06± 0,11	0,98± 0,09	0.31 (0.74)	6,64± 0,33	7,36± 0,35	6,70± 0,38	1.11 (0.34)	0,25± 0,09	0,14± 0,03	0,15± 0,05	1.58 (0.22)
ДА	0,29± 0,02	0,31± 0,03	0,31± 0,02	0.15 (0.86)	0,08± 0,01	0,09± 0,01	0,08± 0,01	0.49 (0.62)	1,77± 0,13	1,63± 0,10	1,53± 0,11	0.89 (0.42)	45,00 ±2,62	42,96 ±2,68	44,70 ±2,42	0.07 (0.94)
ДОФУК	0,12± 0,01	0,13± 0,01	0,12± 0,02	0.49 (0.62)	0,05± 0,01	0,04± 0,01	0,05± 0,01	0.09 (0.92)	0,35± 0,04	0,39± 0,05	0,36± 0,05	0.07 (0.94)	4,01± 0,31	3,88± 0,24	4,14± 0,24	0.21 (0.82)
ГБК	0,11± 0,02	0,11± 0,03	0,14± 0,05	0.20 (0.82)	0,23± 0,06	0,26± 0,08	0,24± 0,06	0.04 (0.97)	0,09± 0,02	0,13± 0,04	0,09± 0,02	0.22 (0.81)	2,83± 0,21	2,59± 0,14	2,62± 0,17	0.38 (0.69)
5-НТ	2,68± 0,09	2,56± 0,12	2,87± 0,15	2.05 (0.14)	2,46± 0,15	2,69± 0,12	2,55± 0,10	1.08 (0.35)	5,52± 0,27	5,12± 0,28	5,49± 0,23	0.54 (0.59)	3,06± 0,10	2,87± 0,12	2,91± 0,12	0.68 (0.52)
5-ГИУК	0,67± 0,03	0,65± 0,04	0,68± 0,03	0.67 (0.52)	1,22± 0,04	1,31± 0,05	1,26± 0,04	2.83 (0.07)	1,86± 0,07	1,89± 0,12	1,93± 0,10	0.19 (0.83)	1,79± 0,09	1,63± 0,06	1,64± 0,06	1.30 (0.29)

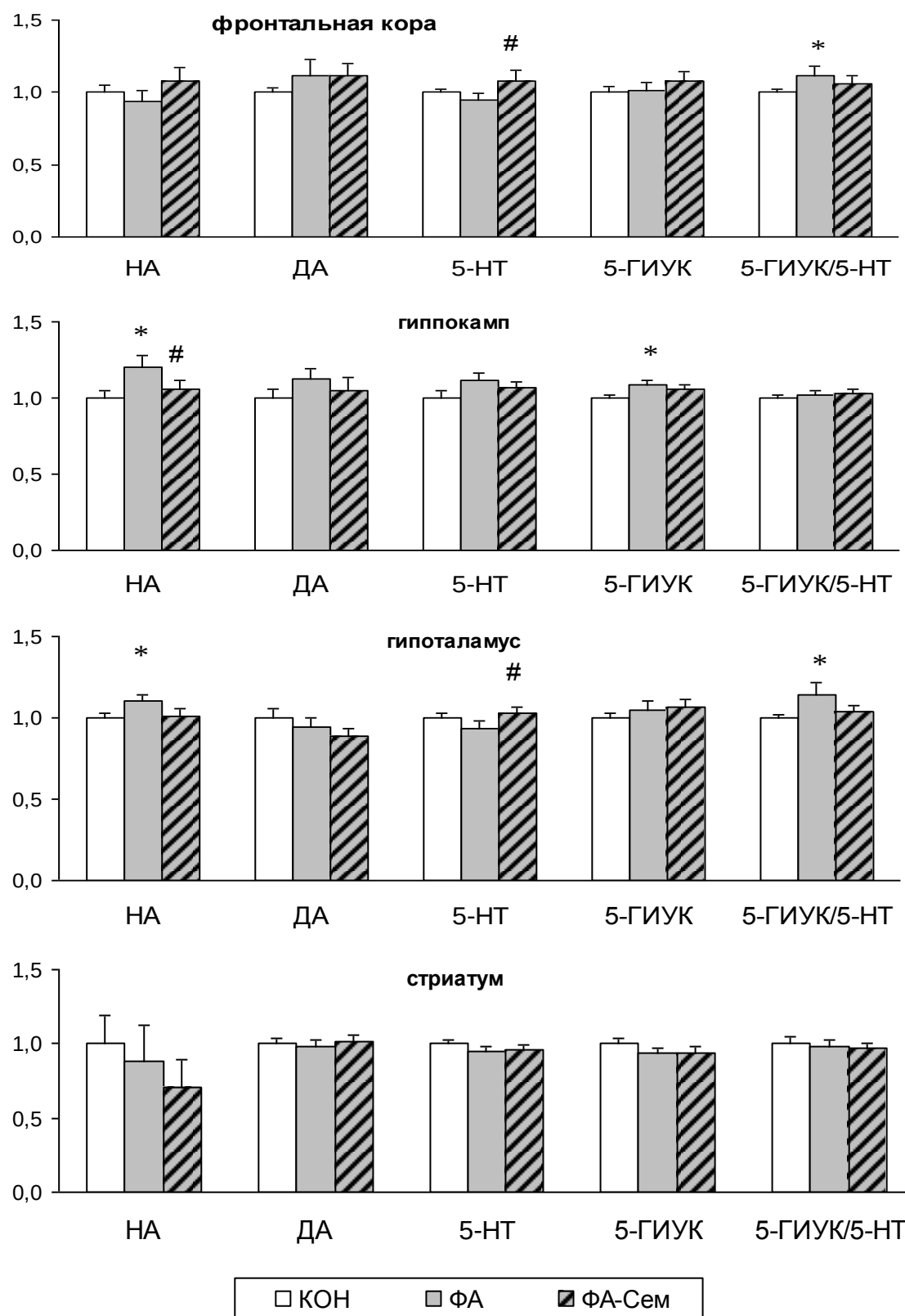


Рис. 29. Влияние флувоксамина и семакса на содержание биогенных аминов и их метаболитов в структурах мозга крыс в возрасте 63 дня. Флувоксамин вводили в/б в дозе 10 мг/кг ежедневно с 1 по 14 ПНД, семакс – и/н в дозе 0.05 мкг/кг с 15 по 28 ПНД. Число животных в группе: n (КОН)=21; n (ФА)=18; n (ФА-Сем)=21. Значимые отличия от группы “КОН” ($p < 0.05$) отмечены *; от группы “ФА-Сем” ($p < 0.05$) – #.

3.7. Обсуждение результатов

В третьей части работы представлены данные по физическому развитию, поведению и состоянию системы биогенных аминов мозга крыс в возрасте от 30 до 63 дней.

Эксперименты показали, что введение флувоксамина в неонатальный период жизни приводит к оставленному замедлению соматического роста крыс. Снижение массы тела взрослых животных, которым в неонатальный период вводили СИОЗС, зарегистрировано во многих исследованиях. Так, введение сертралина с 1 по 14 дни жизни мышей приводило к снижению массы тела животных в возрасте 6-8 месяцев [Kummet et al., 2012]. У крыс, которым вводили циталопрам с 8 по 21 ПНД, отмечалось снижение массы тела с 70 по 100 дни жизни [Harris et al., 2012]. Инъекции флуоксетина мышам с 4 по 21 ПНД вызывали уменьшение массы тела животных на 90 и 110 дни жизни [Karova et al., 2009]. Однако в другом исследовании не было зарегистрировано изменения веса мышей, получавших флуоксетин в те же сроки [Ansorge et al., 2004]. На основании данных литературы и полученных нами результатов можно заключить, что неонатальное введение СИОЗС приводит к замедлению набора веса у взрослых животных. Отставленное влияние неонатального введения ФА на массу тела крыс может быть связано с анорексигенными эффектами 5-НТ, т.к. в возрасте 1 месяц у животных, получавших ФА, отмечалась повышенная активность 5-НТ системы. Однако в возрасте 2 месяца, согласно полученным нами результатам, активность этой медиаторной системы несколько снижена. Кроме того, неонатальное введение флувоксамина и последующее введение семакса не оказывали влияния на уровень пищевой мотивации животных в возрасте 49 дней, в период отставания крыс группы “ФА” по массе тела от контроля. Было показано, что неонатальное введение СИОЗС приводит к развитию гиперметаболического состояния у взрослых мышей [Kummet et al., 2012]. Повышение уровня метаболизма у животных, получавших ФА, также может быть причиной замедления набора веса. Кроме того, вторая фаза снижения веса тела у животных группы ФА наблюдается во время отлучения от матери и перехода животных к самостоятельному питанию. Повышенный уровень тревожности крыс может затруднить адаптацию к новым условиям. Последующее введение семакса ослабляет влияние флувоксамина на массу тела, при этом нормализующее действие семакса больше выражено у самок, чем у самцов крыс.

Изучение способности к обучению животных показало, что у крыс, получавших неонатально инъекции ФА, нарушается выработка пищедобывательного рефлекса на место и сохранение ранее выработанного рефлекса пассивного избегания болевого раздражителя. При этом у животных группы “ФА” отмечается возрастание тревожности и эмоциональной напряженности в условиях сложного лабиринта. Изучение влияния

неонатального введения СИОЗС на способность животных к обучению ранее не проводилось. Оценка отставленных эффектов пренатального введения СИОЗС показала, что у крыс, подвергавшихся действию флуоксетина с 7 по 20 день пренатального развития, отмечалось улучшение обучения в лабиринте Морриса и навыка пассивного избегания [Baird et al., 2007; Olivier et al., 2011]. В наших экспериментах было зарегистрировано негативное влияние неонатального введения ФА на способность животных к обучению в тестах как с положительным, так и отрицательным подкреплением. Последующее введение семакса ослабляло нарушение обучения с положительным подкреплением, но не влияло на сохранение рефлекса пассивного избегания, нарушенное введением ФА.

Исследование эмоционального состояния животных в возрасте 55-60 дней показало, что так же, как и в возрасте одного месяца, животные, получавшие неонатально ФА, характеризовались высоким уровнем тревожности в условиях повышенной стрессорной нагрузки. В условиях незначительной стрессорной нагрузки нами не было зарегистрировано изменения поведения крыс группы “ФА” относительно контроля ни в тесте ПКЛ (при повторном помещении в экспериментальные условия), ни в тесте О-образный лабиринт (в условия которого крысы помещались впервые). Т.е., в возрасте 2 месяца у крыс, получавших ФА, сохраняется повышенный уровень тревожности в ответ на высокую стрессорную нагрузку, но не наблюдается возрастания исследовательского поведения в условиях низкой стрессорной нагрузки.

Оценка выраженности депрессивных составляющих поведения крыс проводилась нами с использованием двух тестов – “принудительное плавание” и “предпочтение сахарозы”. В тесте “принудительное плавание” изменения поведения у крыс, получавших ФА, определялись экспериментальными условиями. В случае меньших цилиндров поведение этих крыс не отличалось от контроля, при увеличении поверхности цилиндра наблюдалось возрастание длительности активного плавания. Мы предполагаем, что наблюдаемые эффекты ФА связаны не со снижением депрессивных компонентов поведения, а с возрастанием двигательной и исследовательской активности в условиях неизбежного стресса. Отсутствие эффектов ФА в тесте “предпочтения сахарозы” подтверждает это предположение.

Многочисленные исследования показали, что увеличение внеклеточного уровня серотонина в перинатальном периоде может вызвать тонкие изменения в функциональности мозга и вызывать неадекватное поведение у взрослых животных. Изменение эмоционального состояния взрослых грызунов, получавших в неонатальный период СИОЗС, отмечены во многих исследованиях. В 1997 году Hansen с соавторами

впервые показали, что введение СИОЗС крысам с 8 по 21 ПНД приводит к увеличению времени иммобилизации в тесте “принудительное плавание” во взрослом возрасте, что говорит о возрастании уровня депрессивности [Hansen et al., 1997; Olivier et al., 2008]. Мыши, получавшие неонатально флуоксетин (4-21 ПНД), в дальнейшем проявляют пониженную исследовательскую активность и повышенную тревожность [Ansorge et al., 2004], характеризуются долговременными изменениями поведения в тестах темно-светлая камера и открытое поле [Kargova et al., 2009]. Кроме того, неонатальное введение СИОЗС влияет на пищевое поведение животных и поведение в условиях повышенной стрессорной нагрузки [Ansorge et al., 2004]. Было высказано предположение о том, что неонатальное введение СИОЗС вызывает в дальнейшем нарушение эмоционального ответа на стресс и новизну [Ansorge et al., 2008]. Однако в других работах не было отмечено изменения уровня тревожности взрослых животных, получавших неонатально СИОЗС [Hansen et al., 1997; Harris et al., 2012]. В работе Каргова с соавторами было зарегистрировано снижение длительности иммобилизации в тесте “принудительное плавание” у мышей, которым вводили флуоксетин с 4 по 21 дни жизни [Kargova et al., 2009]. Т.е. данные по изменениям эмоционального состояния взрослых грызунов, которым в неонатальный период вводили СИОЗС, неоднозначны. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что направленность изменений поведения крыс, получавших ФА, определяется экспериментальными условиями (тесты ПКЛ и “принудительное плавание”). Можно предположить, что неоднозначность в эффектах, полученных разными авторами при изучении отставленных эффектов неонатального воздействия СИОЗС, связана с различиями в условиях экспериментов.

При измерении содержания биогенных аминов и их метаболитов в мозге крыс в возрасте 2 месяца было зарегистрировано увеличение скорости оборота 5-НТ на фоне снижения его содержания в гипоталамусе и фронтальной коре, повышение уровня метаболита серотонина в гиппокампе и возрастание уровня норадреналина в гипоталамусе и фронтальной коре. Изменение функционального состояния системы биогенных аминов мозга взрослых животных, которым неонатально вводили СИОЗС, зарегистрировано во многих исследованиях. Так, показано, что блокада транспортера серотонина в неонатальный период приводит в дальнейшем к снижению содержания триптофангидроксилазы в ядрах шва [Maciag et al., 2006] и уменьшению экспрессии SERT в гиппокампе [Weaver et al., 2010] и фронтальной коре мозга крыс [Maciag et al., 2006; Harris et al., 2012]. У животных, получавших неонатально СИОЗС, в возрасте 2 месяца было зарегистрировано увеличение скорости оборота серотонина в коре и стволе мозга [Hilaviki et al., 1995]. Другими авторами отмечалось снижение плотности 5-НТ-2А и 5-НТ-

2С рецепторов, что указывает на общее снижение активности серотонинергической системы [Kinast et al., 2013]. Кроме долговременного изменения активности 5-НТ системы блокада SERT в период развития приводит в дальнейшем к изменению состояния норадренергической системы мозга. Показано, что введение циталопрама с 1 по 10 дни жизни крыс вызывает увеличение активности нейронов голубого пятна у животных в возрасте 3 месяца [Darling et al., 2011]. У взрослых животных на фоне хронического введения СИОЗС (пароксетин в течение 14 дней) наблюдается снижение активности НА системы [West et al., 2010]. Одним из механизмов разнонаправленного влияния СИОЗС на эти взаимосвязанные медиаторные системы является ингибирующее влияние 5-НТ на функцию нейронов голубого пятна [Darling et al., 2011]. Можно предположить, что увеличение активности НА системы у животных, получавших неонатально СИОЗС, определяется ослаблением такого ингибирующего влияния, вызванного снижением активности 5-НТ системы. Изменения активности норадренергической системы мозга приводят к нарушению реакции на значимые стимулы окружающей среды и адаптивного поведения [West et al., 2010; Darling et al., 2011].

Таким образом, нами показано, что введение ФА с 1 по 14 дни жизни крыс приводит к долговременным изменениям соматического роста, эмоционального состояния и способности к обучению крыс. В основе этих эффектов лежит изменение функциональной активности системы биогенных аминов мозга – снижение активности серотонинергической и повышение активности норадренергической систем.

Введение семакса после завершения курса флувоксамина в значительной степени компенсирует нарушения, вызванные неонатальной блокадой SERT. У животных, получавших инъекции семакса, нормализуется масса тела, уровень тревожности и ослабляются нарушения когнитивных функций. Позитивное действие семакса на состояние крыс, получавших в неонатальный период флувоксамин, связано с его нормализующим воздействием на функциональную активность системы биогенных аминов мозга животных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное нами исследование показало, что хроническое введение селективного ингибитора обратного захвата серотонина – флувоксамина детенышам белых крыс с 1 по 14 дни жизни приводит к изменениям физического развития, эмоционального состояния, способности к обучению и активности системы биогенных аминов мозга крыс. Отличия от контрольных животных наблюдались в течение всего времени регистрации – до 62 дня жизни крыс, т.е. носили отставленный, долговременный характер. Изменения, зарегистрированные нами у крыс в возрасте 2 месяца нельзя объяснить длительными эффектами, связанными с отменой препарата. Показано, что хроническое введение препаратов группы СИОЗС взрослым крысам (в возрасте 3 месяца) не приводит к изменениям эмоционального состояния крыс через 2.5 месяца. Существует “критический период” (первые 3 недели жизни крыс), в течение которого введение антидепрессантов приводит к долговременным изменениям поведения животных [Borue et al., 2007; Ansorge et al., 2008].

В наших экспериментах были использованы животные обоего пола, самцы и самки одного выводка. Практически все изменения, вызванные введением флувоксамина, не зависели от пола животных, негативные последствия введения препарата были зарегистрированы как у самцов, так и самок крыс.

Оценка острых эффектов неонатального введения ФА показала, что на фоне введения препарата с 1 по 14 ПНД наблюдается замедление соматического роста, снижение возраста открытия глаз и задержка становления моторных рефлексов. Негативное влияние неонатального введения препаратов группы СИОЗС на изменение массы тела животных было зарегистрировано в ряде исследований. Так, показано, что к замедлению роста животных приводит введение в ранний период развития крыс циталопрама [Deiró et al., 2008], сертралина [Deiró et al., 2006; Kummet et al., 2012] и флуоксетина [Karpova et al., 2009]. Проведенные нами исследования показали, что на фоне введения флувоксамина, также как и других представителей этой группы антидепрессантов, замедляется прирост массы тела крыс. Т.е. увеличение внеклеточного содержания 5-НТ в период раннего неонатального развития приводит к замедлению соматического роста.

Нами было зарегистрировано нарушение становления моторных рефлексов в группе животных, получавших инъекции ФА. Задержка развития двигательных рефлексов была отмечена в работах Diego и соавторов, которые показали более позднее становление рефлексов у крыс, которым неонатально вводили сертралин [Deiró et al., 2006] или циталопрам [Deiró et al., 2008]. Следовательно, введение СИОЗС крысам в ранний

постнатальный период приводит к нарушению развития моторных функций. Известно, что в период интенсивного развития мозга изменения содержания биогенных аминов, вызванные фармакологическими или стрессорными воздействиями, могут приводить к необратимым морфологическим и функциональным изменениям в ЦНС [Lopes de Souza et al., 2004]. Такие изменения могут приводить к задержке развития двигательных функций [Kinast et al., 2013].

Сопоставление эффектов, зарегистрированных нами на фоне неонатального введения ФА, с клиническими данными позволяет заключить, что введение СИОЗС детенышам крыс в течение первых недель жизни является адекватной моделью для изучения эффектов пренатального воздействия препаратов этой группы у человека.

Оценка отставленных эффектов неонатального введения флувоксамина показала, что у крыс, получавших неонатально ФА, в возрасте 1 месяц наблюдается увеличение уровня тревожности в условиях, провоцирующих реакцию страха, а также повышение исследовательской активности в условиях низкой стрессорной нагрузки. Повышение реакции на внешние раздражители у крыс, получавших ФА, возможно связано с избыточной активностью серотонинергической системы мозга. При измерении уровня биогенных аминов через 2 недели после последней инъекции ФА, было показано повышение содержания 5-НТ, 5-ГИУК и соотношения 5-ГИУК/5-НТ в различных отделах мозга крыс. Таким образом, введение селективного ингибитора обратного захвата серотонина флувоксамина приводит к оставленной активации серотонинергической системы мозга. В клинических исследованиях было показано повышение уровня 5-ГИУК после окончания хронического приема флуоксетина (30 мг/кг/день в течение 3 недель), который сохраняется на высоком уровне в течение 2-х недель после прекращения хронического приема [Renoir, 2013]. В исследованиях на животных было показано, что пренатальное введение селективных ингибиторов обратного захвата серотонина увеличивает оборот серотонина, что проявляется в повышении соотношения 5-ГИУК/5-НТ во фронтальной коре и стволе мозга у крыс в возрасте двух месяцев [Oliver et al., 2013]. Известно, что избыток серотонина характеризуется импульсивным поведением и снижением аппетита [Ansorge et al., 2004; Karpova et al., 2010; Frick et al., 2015].

На 2-м месяце жизни наблюдалась вторая фаза снижения веса тела у животных группы “ФА”. Известно, что серотонинергическая система играет важную роль в регуляции аппетита и потребления пищи. Препараты, увеличивающие внеклеточное содержание 5-НТ, проявляют выраженную анорексигенную активность [Halford, Blundell, 2000; Kinast et al., 2013]. Однако зарегистрированное нами отставленное замедление набора веса нельзя объяснить анорексигенными эффектами 5-НТ, т.к. в возрасте 2 месяца

мы наблюдает тенденцию к снижению содержания серотонина в мозге. Показано, что неонатальное введение СИОЗС приводит к развитию гиперметаболического состояния у мышей [Kummet et al., 2012]. Повышение уровня метаболизма у животных, получавших ФА, также может быть причиной замедления набора веса. Кроме того, вторая фаза снижения веса тела у животных группы ФА наблюдается во время отлучения от матери и перехода животных к самостоятельному питанию. Повышенный уровень тревожности крыс может затруднить адаптацию к новым условиям.

У животных, получавших неонатально ФА, в возрасте 2 месяца сохранялась повышенная тревожность в стрессогенных условиях. В этом возрасте в условиях высокой стрессорной нагрузки в тесте ПКЛ так же, как в возрасте 31 день, наблюдалось снижение исследовательской активности и повышение тревожности животных. Отставленные эффекты влияния ФА на эмоциональное состояние животных в условиях однородного освещения были значительно меньше выражены, чем в возрасте 1 месяца. Изменение эмоционального состояния животных, которым неонатально вводили СИОЗС, зарегистрированы во многих исследованиях. Так, показано, что мыши, получавшие неонатально флуоксетин (4-21 ПНД), в дальнейшем проявляют пониженную исследовательскую активность и повышенную тревожность [Ansorge et al., 2004], характеризуются долговременными изменениями поведения в тестах темно-светлая камера и открытое поле [Karpova et al., 2010]. Кроме того, неонатальное введение СИОЗС влияет на пищевое поведение животных и поведение в условиях повышенной стрессорной нагрузки [Ansorge et al., 2004], приводит к увеличению двигательной активности, снижению полового поведения [Maciag et al., 2006] и снижению агрессивности [Manhaes de Castro et al., 2001].

В 1997 году Hansen с соавторами впервые показали, что введение СИОЗС крысам с 8 по 21 ПНД приводит к увеличению времени иммобилизации в тесте принудительного плавания во взрослом возрасте, что говорит о возрастании уровня депрессивности [Hansen et al., 1997]. Однако другими исследователями было зарегистрировано снижение длительности иммобилизации и увеличение ЛП иммобилизации у мышей, которым в те же сроки вводили флуоксетин [Karpova et al., 2009]. Влияние неонатального введения флувоксамина на выраженность депрессивных компонентов поведения нами оценивалось в 2-х модификациях теста “принудительное плавание” и в тесте “предпочтение сахарозы”. Было показано, что в модификации с использованием больших цилиндров наблюдается увеличение длительности активного плавания и снижение длительности иммобилизации. Однако в модификации с меньшими цилиндрами и в тесте “предпочтение сахарозы” не наблюдалось влияния препарата на выраженность депрессивных компонентов поведения.

животных. Можно предположить, что наблюдаемые эффекты ФА связаны не со снижением депрессивных компонентов поведения, а с возрастанием двигательной и исследовательской активности в условиях неизбежного стресса.

В возрасте 2 месяца при измерении содержания биогенных аминов в структурах мозга наблюдалось повышение уровня норадреналина, активность серотонинергической системы снижалась. Согласно данным литературы, повышенное содержание норадреналина в головном мозге приводит к гиперактивности, повышению чувства страха, тревоги и паники. Возможно, повышенная тревожность животных в возрасте 2 месяцев связана с повышенным содержанием NA в головном мозге.

Нами также было зарегистрировано снижение способности к обучению в тестах с положительным и отрицательным подкреплением у животных, которым неонатально вводили флувоксамин. В известной нам литературе нет данных по влиянию неонатального введения СИОЗС на процессы обучения. Показано, что у животных, подвергавшихся пренатально действию антидепрессантов, отмечается улучшение обучения в лабиринте Мориса и выработка навыка пассивного избегания [Olivier et al., 2011]. Полученные нами данные о нарушении выработки условных рефлексов у животных, получавших ФА, можно объяснить изменениям активности 5-НТ-системы, т.к. показано, что увеличение содержания серотонина во фронтальной коре приводит к нарушению выработки инструментальных рефлексов [Frick et al., 2015].

В работе нами была проведена оценка возможности коррекции негативных последствий неонатального введения ФА последующим введением семакса. Ранее в нашей лаборатории было показано, что хроническое неонатальное введение семакса детенышам белых крыс оказывает положительное влияние на их физическое развитие, эмоциональное состояние и способность к обучению. Положительное влияние семакса отмечалось как в норме, так и при воздействии неонатальных негативных факторов различной природы [Себенцова и др., 2005; Володина и др., 2011].

Проведенные нами исследования показали, что введение семакса в течение 3-4 недель жизни крысят (после завершения в/б инъекций флувоксамина) не влияли на возраст открытия глаз, что было вполне ожидаемо, т.к. введение препарата начинали с 15 дня жизни, то к моменту открытия глаз крысята получали только 1-2 инъекции семакса.

Введение семакса с 15 по 28 дни постнатального развития в значительной степени компенсировало негативное последствие введения флувоксамина. Нами было зарегистрировано ослабление эффекта гипотрофии у крыс, получавших неонатально инъекции флувоксамина. Такой эффект семакса может быть связан с усилением пищевого поведения. Как было показано ранее в нашей лаборатории, семакс способен оказывать

адаптогенный эффект, повышая пищевую мотивацию у животных, подвергавшихся неонатальному стрессу [Володина и др., 2011].

У животных, получавших неонатально флувоксамин, отмечалось возрастание уровня тревожности в тесте ПКЛ при ярком освещении т.е., в условиях высокой стрессорной нагрузки. Последующее введение семакса нормализовало поведение крыс в ПКЛ в стрессогенных условиях. В условиях сниженной стрессорной нагрузки, у животных, получавших флувоксамин, наблюдалось повышение ориентировочно-исследовательского поведения. Дальнейшие инъекции семакса ослабляли двигательную активность животных, приближали показатели к контрольным значениям. Аналогичные эффекты наблюдались при повторном проведении ПКЛ в возрасте 2 месяца - в условиях повышенной стрессорной нагрузки семакс снимал эффекты флувоксамина.

Введение ФА приводило к ухудшению обучения как с положительным, так и с отрицательным подкреплением. Инъекции семакса оказывали положительное влияние на обучения с положительным подкреплением, нарушенное введением ФА. Долговременное влияние семакса на способность животных к обучению может быть связано с усилением нейрогенеза в гиппокампе [Тимошенко и др., 2009], и с увеличением содержания BDNF в мозге животных, получавших инъекции пептида [Dolotov et al., 2006]. Другим возможным механизмом положительного действия семакса на способность к обучению является нормализующее действие пептида на эмоциональное состояние животных, получавших неонатально в/б инъекции флувоксамина.

При измерении уровня биогенных аминов в различных структурах мозга, было показано что в возрасте 1 месяца инъекции ФА приводят к повышению содержания 5-НТ, 5-ГИУК и соотношения 5-ГИУК/5-НТ. Инъекции семакса практически не влияли на уровень метаболита, однако снижали содержание серотонина в данных структурах до контрольных значений.

При измерении содержания биогенных аминов в возрасте 63 ПНД наблюдалось достоверное повышение уровня норадреналина в гиппокампе и гипоталамусе у крыс, получавших неонатально ФА. Во фронтальной коре и гипоталамусе у крыс группы ФА отмечалась тенденция к снижению содержания серотонина ($p < 0.08$). Повышение содержания метаболита серотонина сохранялось только в гиппокампе. В группе крыс, получавшим семакс после курса ФА, содержание биогенных аминов и их метаболитов не отличалось от контрольных значений, кроме того, наблюдалось значимое снижение уровня НА в гиппокампе и увеличение уровня 5-НТ во фронтальной коре и гипоталамусе относительно группы ФА. Система биогенных аминов играет важную роль в регуляции эмоционального состояния и в процессах обучения и памяти. Нормализация активности

этой системы, вызванное введением семакса, может обеспечивать улучшение внимания, выделения значимых стимулов, что приводит к ускорению обучения [Левицкая и др., 2008].

На основании проведенного исследования, можно заключить, что неонатальное введение ФА приводит к долговременным изменениям поведения животных, что, вероятно, связано с дисбалансом системы биогенных аминов мозга. Долговременная блокада транспортера серотонина в ранний постнатальный период у взрослых животных приводит к изменению поведения, связанного с исследовательским поведением и реакцией на стрессогенные стимулы [Ansorge et al., 2008]. Введение семакса после завершения курса флувоксамина в значительной степени компенсирует нарушения, вызванные неонатальной блокадой SERT. У животных, получавших инъекции семакса, нормализуется масса тела, уровень тревожности и ослабляются нарушения когнитивных функций. Позитивное действие семакса на состояние крыс, получавших в неонатальный период флувоксамин, связано с его нормализующим воздействием на функциональную активность системы биогенных аминов мозга животных.

ВЫВОДЫ

1. Ежедневное внутрибрюшинное введение ингибитора обратного захвата серотонина флувоксамина в дозе 10 мг/кг с 1 по 14 дни жизни крыс вызывает как острые, так и долговременные изменения физического развития, эмоционального состояния и функциональной активности системы биогенных аминов мозга животных. Эффекты неонатального введения флувоксамина не зависят от пола животных.

2. На фоне введения флувоксамина наблюдаются следующие эффекты: повышение летальности, замедление становления двигательных функций и соматического роста крысят. Указанные эффекты свидетельствуют об адекватности использованной модели для изучения отдаленных последствий пренатального воздействия селективных ингибиторов обратного захвата серотонина у человека.

3. Неонатальное введение флувоксамина приводит к увеличению уровня тревожности крыс в условиях, провоцирующих реакцию тревоги и страха, и нарушению способности к обучению животных в возрасте 1 и 2 месяца.

4. Введение флувоксамина вызывает изменения активности системы биогенных аминов мозга крыс. Отмечается повышение оборота серотонина в стриатуме, фронтальной коре, гипоталамусе и гиппокампе через 3 дня и через 2 недели после отмены препарата. В возрасте двух месяцев у животных, получавших неонатально флувоксамин, наблюдается изменение содержания серотонина и норадреналина в гиппокампе, гипоталамусе и фронтальной коре крыс.

5. Ежедневное интраназальное введение семакса в дозе 0.05 мг/кг с 15 по 28 день жизни крыс ослабляет долговременные негативные последствия неонатального введения флувоксамина – нормализует эмоциональное состояние, способность к обучению и содержание биогенных аминов в различных отделах мозга крыс.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арушанян Э.Б. Дофаминергические системы мозга и депрессия // Журн. невропатологии и психиатрии, 1987, т. 87, №6, с. 925-931.
2. Ашмарин И.П., Незавибатько В.Н., Мясоедов Н.Ф., Каменский А.А., Гривенников И.А., Пономарева-Степная М.А., Андреева Л.А., Каплан А.Я., Кошелев В.Б., Рясина Т.В. Ноотропный аналог адренокортикотропина 4-10-Семакс (15-летний опыт разработки и изучения) // Журнал ВНД, 1997, т. 47(3), с. 420-430.
3. Бояршинова О.С., Шилова О.Б., Маркина Н.В., Гиченок И.В., Перепелкина О.В., Полетаева И.И. Генотип-зависимые изменения порогов болевой чувствительности у взрослых мышей после неонатальных воздействий // Бюлл.экспер. биол. медиц., 2004, т.137(6), с. 532-534.
4. Володина М.А. Влияние препарата семакс на отставленные эффекты неонатальной изоляции у детенышей белых крыс // диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук, М., 2011, 186 с.
5. Володина М.А., Себенцова Е.А., Глазова Н.Ю., Левицкая Н.Г., Андреева Л.А., Манченко Д.М., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Семакс ослабляет влияние неонатальной материнской депривации на поведение белых крыс в подростковом периоде // Бюлл.экспер. биол. медиц., 2011, т.152, № 11, с. 491-494.
6. Володина М.А., Себенцова Е.А., Глазова Н.Ю., Манченко Д.М., Иноземцева Л.С., Долотов О.В., Андреева Л.А., Левицкая Н.Г., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Коррекция семаксом долговременных негативных эффектов неонатальной изоляции у белых крыс // Acta Naturae, 2012, т. 4(1), с. 88-95.
7. Добряков И.В., Колесников И.А. Перинатальная семейная психотерапия //Семья XXI века: сб. материалов международной научно-практической конференции. – Калининград: Янтарный сказ, 2004, с. 156-159.
8. Еремин К.О., Кудрин В.С., Андреева Л.А., Гривенников И.А., Мясоедов Н.Ф., Раевский К.С. Влияние семакса на содержание и обмен биогенных аминов в мозге мышей линии C57/BL // Нейрохимия, 2002, т. 19, № 3, с. 2002-2005.
9. Ещенко Н.Д. Биохимия психических и нервных болезней. Избранные разделы: Учебное пособие. - СПб., 2004. 200 с.
10. Иззати-Заде К.Ф., Баша А.В., Демчук Н.Д. Нарушение обмена серотонина в патогенезе заболеваний нервной системы // Журнал неврологии и психиатрии, 2004, т.9, с 62-70.
11. Левицкая Н.Г., Виленский Д.А., Себенцова Е.А., Андреева Л.А., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Влияние семакса на эмоциональное состояние белых крыс в норме и на фоне действия холецистокинина-тетрапептида // Известия Академии Наук, серия Биологическая, 2010, № 2, с 231-237.
12. Левицкая Н.Г., Глазова Н.Ю., Себенцова Е.А., Манченко Д.М., Виленский Д.А., Андреева Л.А., Алфеева Л.Ю., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Исследование спектра физиологической активности аналога АКТГ(4-10) гептапептида семакс // Нейрохимия, 2008, т.25, № 1-2, с. 111-118.
13. Левицкая Н.Г., Себенцова Е.А., Андреева Л.А., Алфеева Л.Ю., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Нейропротекторные эффекты семакса на фоне МФТП-вызванных нарушений дофаминергической системы мозга // Физиологический журнал им. И.М.Сеченова.- 2002.- т. 88.- № 11.- с. 1369-1377.
14. Лопухов И. Г. Сравнительная клиническая оценка флуоксетина и флувоксамина // Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова, 1996, № 4, с.53-57.
15. Мосолов С.Н. Клиническое применение современных антидепрессантов // Медицинское информационное агентство, СПб., 1995, 568 с.

16. Пантелеева Г.П., Абрамова Л.И., Коренев А.Н. Ингибиторы обратного захвата серотонина в лечении разных типов эндогенных депрессий // Журн. Неврол. Психиат., 2000, т.100, № 3, с. 36-41.
17. Пономарева-Степная М.А., Незавибатько В.Н., Антонова Л.В., Андреева Л.А., Алфеева Л.Ю., Потапан В.Н., Каменский А.А., Ашмарин И.П. Аналог АКТГ₄₋₁₀ – стимулятор обучения пролонгированного действия // Хим.-фарм. Ж., 1984 (7), с. 790-795.
18. Себенцова Е.А., Денисенко А.В., Левицкая Н.Г., Андреева Л.А., Алфеева Л.Ю., Каменский А.А., Мясоєдов Н.Ф. Отставленные поведенческие эффекты хронического неонатального введения аналога АКТГ(4-10) семакса детенышам белых крыс // Журнал ВНД им. И.П. Павлова, 2005, № 55, с.213-220.
19. Тимошенко Т.В., Перепелкина О.В., Маркина Н.В., Ревещин А.В., Павлова Г.В., Полетаева И.И., Сухих Г.Т. Аудиогенная эпилепсия у крыс двух генотипов после неонатальных воздействий, усиливающих нейрогенез в зубчатой извилине // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, 2009, № 4., с. 441-444.
20. Угрюмов М.В. Механизмы нейроэндокринной регуляции // М.: «Наука», 1999, с.299.
21. Шилова О.Б., Маркина Н.В., Перепелкина О.В., Гиченко В.В., Корочкин Л.И., Полетаева И.И. Неонатальные инъекции препарата семакс и физиологического раствора вызывают изменения поведения взрослых мышей разных генотипов в тесте «открытое поле». // Журн. высш. нервн. деят., 2004, т.54, №6, с. 785-794.
22. Шилова О.Б., Орлова Е.О., Ковалев Г.И., Лильп И.Г., Полетаева И.И., Корочкин Л.И. Неонатальное введение АКТГ₄₋₁₀ вызывает зависимые от генотипа изменения уровней мозговых моноаминов и аудиогенной чувствительности у взрослых мышей линий СВА и 101/НУ // ДАН, 1998а, т. 361 (6), с. 834-836.
23. Шилова О.Б., Орлова Е.О., Ковалев Г.И., Ревещин А.В., Лильп И.Г., Полетаева И.И., Корочкин Л.И. Межлинейные различия у мышей в ответе на неонатальное введение фрагмента АКТГ₄₋₁₀: поведение, нейрохимия, морфология мозга.// Генетика, 2000, т. 36, №11, с. 1507-1514.
24. Шилова О.Б., Полетаева И.И., Веретенников Н.А., Корочкин Л.И. Влияние неонатального введения АКТГ(4-10) на поведение и катехоламинергическую систему мозга взрослых мышей различных линий. // Докл. РАН, 1996, 348 (5), с.715-718.
25. Acker G.R., Berran J., Strand F.L. ACTH neuromodulation of the developing motor system and neonatal learning in the rat // Peptides, 1985, v. 6(2), p.41-49.
26. Altamura A.C., De Gaspari I.F., Rovera C., Colombo E.M., Mauri M.C., Fedele L. Safety of SSRIs during pregnancy: a controlled study // Hum. Psychopharmacol., 2013, v. 28(1), p. 25-28.
27. Alwan S., Friedman J.M. Safety of selective serotonin reuptake inhibitors in pregnancy // CNS Drugs, 2009, v. 3(6), p. 493-509.
28. Anderson I.M., Nutt D.J., Deakin J.F. Evidence-based guidelines for treating depressive disorders with antidepressants: a revision of the 1993 British Association for Psychopharmacology Guidelines // Journal of Psychopharmacology, 2000, v. 14(1), p. 3–20.
29. Ansorge M.S., Hen R., Gingrich J.A. Neurodevelopmental origins of depressive disorders // Curr. Opin. Pharmacol., 2007, v. 7(1), p. 8-17.
30. Ansorge M.S., Morelli E., Gingrich J.A. Inhibition of serotonin but not norepinephrine transport during development produces delayed, persistent perturbations of emotional behaviors in mice // J Neurosci., 2008, v. 28(1), p. 199-207.
31. Ansorge M.S., Zhou M., Lira A., Hen R., Gingrich J.A. Early-life blockade of the 5-HT transporter alters emotional behavior in adult mice // Science, 2004, v. 306, p. 879-881.
32. Arborelius L., Eklund M.B. Both long and brief maternal separation produces persistent changes in tissue levels of brain monoamines in middle-ages female rats // Neuroscience, 2007, v. 145(2), p. 738–750.

33. Ashmarin I.P., Nezavibatko V.N., Levitskaya N.G., Koshelev V.B., Kamensky A.A. Design and investigation of an ACTH(4-10) analogue lacking D-amino acids and hydrophobic radicals // *Neuroscience Research Commun.*, 1995, v. 16(2), p.105-112.
34. Attard A. Antidepressants // *Treatment strategies and psychopharmacology*, 2012, p. 681-683.
35. Bairy K.L., Madhyastha S., Ashok K.P., Bairy I., Malini S. Developmental and behavioral consequences of prenatal fluoxetine // *Pharmacology*, 2007, v. 79(1), p. 1-11.
36. Bakke J.L., Lawrence N.L., Robinson S.A., Bennett J., Bowers C. Late endocrine effects of L-dopa, 5-HTP, and 6-OH-dopa administered to neonatal rats // *Neuroendocrinology*, 1978, v. 25, № 5, p. 291-302.
37. Bayer S.A., Altman J., Russo R.J., Zhang X. Timetables of neurogenesis in the human brain based on experimentally determined patterns in the rat // *Neurotoxicology*, 1993, v. 14(1), p. 83-144.
38. Bel N., Artigas F. Fluvoxamine preferentially increases extracellular 5-hydroxytryptamine in the raphe nuclei: an in vivo microdialysis study // *European Journal of Pharmacology*, 1992, v. 229(1), p. 101-103.
39. Benfield P., Ward A. Fluvoxamine. A Review of Its Pharmacodynamic and Pharmacokinetic Properties, and Therapeutic Efficacy in Depressive Illness // *Drugs*, 1986, v. 32(4), p. 313-334.
40. Birndorf C.A., Madden A., Portera L., Leon A.C. Psychiatric symptoms, functional impairment, and receptivity toward mental health treatment among obstetrical patients // *Int J Psychiatry Med.*, 2001, v.31(4), p. 355-65.
41. Blier P., Ward N.M. Is there a role for 5HT-1A-agonists in the treatment of depression // *Biol. Psychiat.*, 2003, v. 53(3), p. 193-203.
42. Bonnin A., Peng W., Hewlett W., Levitt P. Expression mapping of 5-HT₁ serotonin receptor subtypes during fetal and early postnatal mouse forebrain development // *Neuroscience*, 2006, v. 141(2), p. 781-794.
43. Borue X., Chen J., Condrón B.G. Developmental Effects of SSRI's – Lessons learned from Animal Studies // *Int J Dev Neurosci.*, 2007, v. 25(6), p. 341-347.
44. Bosker F.J., Tanke M.A., Jongsma M.E., Cremers T.I., Jagtman E., Pietersen C.Y., van der Hart M.G., Gladkevich A.V., Kema I.P., Westerink B.H., Korf J., den Boer J.A. Biochemical and behavioral effects of long-term citalopram administration and discontinuation in rats: role of serotonin synthesis // *Neurochem Int.*, 2010, v.7(8), p. 948-957.
45. Brezun J.M., Daszuta A. Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats // *Neuroscience*, 1999, v. 89(4), p. 999-1002.
46. Bruinink A., Lichtensteiger W., Schlumpf M. Pre- and postnatal ontogeny and characterization of dopaminergic D₂, serotonergic 5₂, and spirodecane binding sites in rat forebrain // *J Neurochem.*, 1983, v. 40(5), p. 1227-1236.
47. Casper R.C., Fleisher B.E., Lee-Ancas J.C., Gilles A.A., Gaylor E., Debattista A., Houme H. Follow-up of children of depressed mothers exposed or not exposed to antidepressant drugs during pregnancy // *The Journal of Pediatrics.*, 2003, v. 142(4), p. 402-408.
48. Casper R.C., Gilles A.A., Fleisher B.E., Baran J., Enns G., Lazzeroni L.C. Length of prenatal exposure to selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) antidepressants: effects on neonatal adaptation and psychomotor development // *Psychopharmacology (Berl)*, 2011, v. 217(2), p. 211-219.
49. Catterton M.L., Preskorn S.H. Pharmacokinetics of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors: Clinical Relevance // *Pharmacology & Toxicology*, 1996, v. 78(4), p. 203-208.
50. Chaki S., Hirota S., Funakoshi T., Suzuki Y., Suetake S., Okubo T., Ishi T., Nakazato A., Okuyama S. Anxiolytic-like and antidepressant-like activity of MCL0129, a novel and potent nonpeptide antagonist of the melanocortin-4 receptor // *J. Pharmacol. Exper. Ther.*, 2003, v. 304(2), p. 818-826.

51. Chang H.Y., Keyes K.M., Lee K.S., Choi I.A., Kim S.J., Kim K.W., Shin Y.H., Ahn K.M., Hong S.J., Shin Y.J. Prenatal maternal depression is associated with low birth weight through shorter gestational age in term infants in Korea // *Early Hum. Dev.*, 2014, v. 90(1), p. 15-20.
52. Cheer S.M., Figgitt D.P. Fluvoxamine: a review of its therapeutic potential in the management of anxiety disorders in children and adolescents // *Paediatric Drugs*, 2001, v. 3(10), p.763-781.
53. Cheer S.M., Goa K.L. Fluoxetine // *Drugs*, 2001, v. 61(1), p. 81-110.
54. Claassen V., Davies J.E., Hertting G., Placheta P. Fluvoxamine, a specific 5 hydroxytryptamine uptake inhibitor // *Br. J. Pharmac.*, 1977, v. 60(4), p. 505-516.
55. Clancy B., Finlay B. L., Darlington R.B., Anand K.J.S. Extrapolating brain development from experimental species to humans // *Neurotoxicology*, 2007, v. 28(5), p.931-937.
56. Cone R.D. Anatomy and regulation of the central melanocortin system // *Nature Neuroscience*, 2005, v. 8(5), p. 571-578.
57. Costei A. M., Kozer E., Ho T., Ito S., Koren G. Perinatal outcome following third trimester exposure to paroxetine // *Arch Pediatr Adolesc Med.*, 2002. V.156(11), p. 1129-1132.
58. Cryan J.F., Valentino R.J., Lucki I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test // *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 2005, v.29(4-5), p. 547-569.
59. Dahlstrom A., Fuxe K. Evidence for the existence of an outflow of noradrenaline nerve fibres in the ventral roots of the rat spinal cord // *Experientia*, 1965, v. 21(7), p. 409-410.
60. Darling R.D., Alzghoul L., Zhang J., Khatri N., Paul I.A., Simpson K.L., Lin R.C. Perinatal citalopram exposure selectively increases locus ceruleus circuit function in male rats // *J Neurosci.*, 2011, v. 31(46), p. 16709-15.
61. Daynes R.A., Robertson B.A., Cho B.H., Burnham D.K., Newton R. Alfa-melanocyte-stimulating hormone exhibits target cell selectivity in its capacity to affect interleukin 1-inducible responses in vivo and in vitro // *J. Immunol.*, 1987, v. 139(1), p. 103-109.
62. Deiró T.C., Carvalho J., Nascimento E., Medeiros J.M., Cajuhi F., Ferraz-Pereira K.N., Manhães-de-Castro R. Neonatal exposure to citalopram, a serotonin selective reuptake inhibitor, programs a delay in the reflex ontogeny in rats // *Arq Neuropsiquiatr*, 2008, v. 66(3B), p. 736-740.
63. Deiró T.C., Manhães-de-Castro R., Cabral-Filho J.E., Barreto-Medeiros J.M., Souza S.L., Marinho S.M., Castro F.M., Toscano A.E., Jesus-Deiró R.A., Barros K.M. Sertraline delays the somatic growth and reflex ontogeny in neonate rats // *Physiol Behav.*, 2006, v. 87(2), p. 338-344.
64. Deltheil T., Guiard B.P., Cerdan J., David D.J., Tanaka K.F., Repérant C., Guilloux J.P., Coudoré F., Hen R., Gardier A.M. Behavioral and serotonergic consequences of decreasing or increasing hippocampus brain-derived neurotrophic factor protein levels in mice // *Neuropharmacology*, 2008, v. 55(6), p. 1006-1014.
65. Descarries L., Watkins K.C., Garcia S., Beaudet A. The serotonin neurons in nucleus dorsalis of adult rat: a light and electron microscope radioautographic study // *The Journal of comparative neurology*, 1982, v. 207(3), p. 239-254.
66. Diav-Citrin O., Ornoy A. Selective serotonin reuptake inhibitors in human pregnancy: to treat or not to treat ? // *Obstetrics and Gynecology International*, 2012, v. 2012, p.698947.
67. Dolotov O.V., Karpenko E.A., Inozemtseva L.S., Seredenina T.S., Levitskaya N.G., Rozyczka J., Dubynina E.V., Novosadova E.V., Andreeva L.A., Alfeeva L.Yu., Kamensky A.A., Grivennikov I.A., Myasoedov N.F., Engele J. Semax, an analog of ACTH(4-10) with cognitive effects, regulates BDNF and trkB expression in the rat hippocampus // *Brain Res.*, 2006, v. 1117(1), p. 54-60.
68. Domar A.D., Moragianni V.A., Ryley D.A., Urato A.C. The risks of selective serotonin reuptake inhibitor use in infertile women: a review of the impact on fertility, pregnancy, neonatal health and beyond // *Hum Reprod*, 2013, v. 28(1), p. 160-171.

69. Doris A., Ebmeier K., Shaja-han P. Depressive illness // *Lancet.*, 1999, v. 354, p. 1369-1375.
70. Duman R.S. Neural plasticity: consequences of stress and actions of antidepressant treatment // *Dialogues Clin Neurosci.*, 2004, v. 6(2), p. 157-169.
71. Duman R.S., Malberg J., Nakagawa S., DiSa C. Neuronal plasticity and survival in mood disorders // *Biol. Psychiatry.*, 2000, v. 48(8), p. 732-739.
72. Duman R.S., Monteggia L.M. A neurotrophic model for stress-related mood disorders // *Biol. Psychiatry.*, 2006, v. 59(12), p. 1116-1127.
73. Eipper B.A., Mains R.E. Structure and biosynthesis of pro-opiomelanocortin/endorphin and related peptides. // *Endocrine Reviews*, 1980, v. 1(1), p. 1–27.
74. Eremin K.O., Kudrin V.S., Saransaari P., Oja S.S., Grivennikov I.A., Myasoedov N.F., Rayevsky K.S. Semax, an ACTH(4-10) analogue with nootropic properties, activates dopaminergic and serotonergic brain systems in rodents // *Neurochem Res.*, 2005, v. 30(12), p. 1493-1500.
75. Farvolden P., Kennedy S.H., Lam R.W. Recent developments in the psychobiology and pharmacotherapy of depression: optimising existing treatments and novel approaches for the future // *Expert Opin Investig Drugs*, 2003, v. 12(1), p. 65-86.
76. Figgitt D.P., McClellan K.J. Fluvoxamine.// *Drugs*, 2000, v.60(4), p. 925-954.
77. Fishnell A. Depression and anxiety in pregnancy // *J. Popul. Ther. Clin. Pharmacol.*, 2010, v. 17(3), p. 363-369.
78. Francis D.D., Caldji C., Champagne F., Plotsky P.M., Meaney M.J. The role of corticotropin-releasing factor--norepinephrine systems in mediating the effects of early experience on the development of behavioral and endocrine responses to stress // *Biol. Psychiatry*, 1999, v. 46(9), p. 1153-66.
79. Frick L.R., Bernardez-Vidal M., Hocht C., Zanutto B.S., Rapanelli M. Dual role of serotonin in the acquisition and extinction of reward-driven learning: Involvement of 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} and 5-HT₃ receptors // *Behavioural Brain Research*, 2015, v. 277, p. 193–203.
80. Gantz I., Fong T.M. The melanocortin system // *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2003, v. 284, p. 468-474.
81. Gaspar P., Cases O., Maroteaux L. The developmental role of serotonin: news from mouse molecular genetics // *Nat Rev Neurosci.*, 2003, v. 4(12), p. 1002-1012.
82. Gentile S., Galbally M. Prenatal exposure to antidepressant medications and neurodevelopmental outcomes: A systematic review // *Journal of Affective Disorders*, 2011, v.128(1-2), p. 1–9.
83. Gobbi G., Murphy D.L., Lesch K., Blier P.J. Modifications of the serotonergic system in mice lacking serotonin transporters: an in vivo electrophysiological study // *Pharmacol Exp Ther.*, 2001, v. 296(3), p. 987-995.
84. Gronli J., Murison R., Fiske E., Bjorvatn B., Sørensen E., Portas C.M., Ursin R. Effects of chronic mild stress on sexual behavior, locomotor activity and consumption of sucrose and saccharine solutions // *Physiol Behav.*, 2005, v. 84(4), p. 571-577.
85. Grzeskowiak L.E., Gilbert A.L., Morrison J.L. Neonatal outcomes after late-gestation exposure to selective serotonin reuptake inhibitors // *J Clin Psychopharmacol.*, 2012, v. 32(5), p. 615-621.
86. Halford J.C., Blundell J.E. Pharmacology of appetite suppression // *Prog. Drug Res.*, 2000, v. 54, p. 25-58.
87. Hanley G.E., Oberlander T.F. The effect of perinatal exposures on the infant: antidepressants and depression // *Best Pract. Res. Clin Obstet Gynaecol.*, 2014, v. 28(1), p. 37-48.
88. Hansen H.H., Sanchez C., Meier E. Neonatal administration of the selective serotonin reuptake inhibitor Lu 10-134-C increases forced swimming-induced immobility in adult rats: a putative animal model of depression? // *J Pharmacol Exp Ther.*, 1997, v. 283(3), p. 1333-1341.

89. Harten J.V. Overview of the Pharmacokinetics of Fluvoxamine // *Clinical Pharmacokinetics*, 1995, v. 29(1), p. 1-9.
90. Harris S., Maciag D., Simpson K., Lin R., Paul I. Dose-dependent effects of neonatal SSRI exposure on adult behavior in the rat // *Brain Research*, 2012, v. 1429, p. 52-60.
91. Haskell S.E., Hermann G.M., Reinking B.E., Volk K.A., Peotta V.A., Zhu V., Roghair R.D. Sertraline exposure leads to small left heart syndrome in adult mice // *Pediatr Res.*, 2013, v. 73(3), p. 286-293.
92. Hasler G., Drevets W.C., Manji H.K., Charney D.S. Discovering endophenotypes for major depression // *Neuropsychopharmacology*, 2004, v. 29(10), p. 1765-81.
93. Hashimoto K. Neonatal signs following exposure to SSRIs // *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental.*, 2005, v.20(7), p. 522.
94. Heather A. B., Einarson A., Taddio A., et al. Depression During Pregnancy // *Clin. Drug Invest.*, 2004. v. 24(3), p. 157-179.
95. Hendrick V., Smith L. M., Suri R., Hwang S., Haynes D., Altshuler L. Birth outcomes after prenatal exposure to antidepressant medication // *Am J Obstet Gynecol.*, 2003, v. 188(3), p. 812-815.
96. Hiemke C., Hartter S. Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors // *Pharmacology & Therapeutics*, 2000, v. 85, p. 11-28.
97. Hilakivi I., Ahtee L., Rinne J.O., Taira T., Attila L.M., Marjamaki P. Effects of monoamine uptake inhibitors given early postnatally on monoamines in the brain stem, caudate/putamen and cortex, and on dopamine D1 and D2 receptors in the caudate/putamen // *J Neural Transm Gen Sect.*, 1995, v. 102(2), p. 139-148.
98. Homberg J.R., Olivier J.D., Blom T., Arentsen T., van Brunschot C., Schipper P., Korte-Bouws G., van Luijckelaar G., Reneman L. Fluoxetine exerts age-dependent effects on behavior and amygdala neuroplasticity in the rat // *PLoS ONE*, 2011, v.6(1), e16646.
99. Homberg J.R., Schubert D., Gaspar P. New perspectives on the neurodevelopmental effects of SSRIs // *Trends in Pharmacological Sciences*, 2009, v. 31(2), p. 60-65.
100. Hrdina P.D. Pharmacology of serotonin uptake inhibitors: focus on fluvoxamine // *J Psychiatry Neurosci.*, 1991, v.16(2 Suppl 1), p. 10-18.
101. Huot R.L., Plotsky P.M., Lenox R.H., McNamara R.K. Neonatal maternal separation reduces hippocampal mossy fiber density in adult Long Evans rats // *Brain Res.*, 2002, v. 950(1-2), p. 52-63.
102. Inoue T., Honda M., Kawamura K., Tsuchiya K., Suzuki T. Sertraline treatment of patients with major depressive disorder who failed initial treatment with paroxetine or fluvoxamine // *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2012, v. 38(2), p. 223-227.
103. Ishima T., Fujita Y., Hashimoto K. Interaction of new antidepressants with sigma-1 receptor chaperones and their potentiation of neurite outgrowth in PC12 cells // *Eur J Pharmacol.* 2014, v. 727, p. 167-73.
104. Jimenez-Solem E., Andersen J.T., Petersen M., Broedbaek K., Lander A.R., Afzal S., Torp-Pedersen C., Poulsen H.E. SSRI use during pregnancy and risk of stillbirth and neonatal mortality // *Am. J. Psychiatry*, 2013, v. 170(3), p. 299-304.
105. Judd L.L., Akiskal H.S., Maser J.D., Zeller P.J., Endicott J., Coryell W., Paulus M.P., Kunovac J.L., Leon A.C., Mueller T.I., Rice J.A., Keller M.B. A prospective 12-year study of subsyndromal and syndromal depressive symptoms in unipolar major depressive disorders // *Arch Gen Psychiatry*, 1998, v. 55(8), p. 694-700.
106. Karege F., Bondolfi G., Gervasoni N., Schwald M., Aubry J.M., Bertschy G. Low brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels in serum of depressed patients probably results from lowered platelet BDNF release unrelated to platelet reactivity // *Biol Psychiatry*, 2005, v. 57(9), p. 1068-1072.
107. Karpova N.N., Lindholm J., Pruunsild P., Timmusk T., Castrén E. Long-lasting behavioural and molecular alterations induced by early postnatal fluoxetine exposure are restored

by chronic fluoxetine treatment in adult mice // *European Neuropsychopharmacology*, 2009, v. 19(2), p. 97–108.

108.Kelly R.H., Zatzick D.F., Anders T.F. The detection and treatment of psychiatric disorders and substance use among pregnant women cared for in obstetrics // *Am. J. Psychiat.*, 2001, v.158(2), p. 213-219.

109.Khatri N., Simpson K.L., Lin R.C., Paul I.A. Lasting neurobehavioral abnormalities in rats after neonatal activation of serotonin 1A and 1B receptors: possible mechanisms for serotonin dysfunction in autistic spectrum disorders // *Psychopharmacology (Berl)*, 2014, v. 231(6), p. 1191-200.

110.Kieler H., Artama M., Engeland A., Ericsson O., Furu K., Gissler M., Nielsen R.B., Norgaard M., Stephansson O., Valdimarsdottir U., Zoega H., Haglund B. Selective serotonin reuptake inhibitors during pregnancy and risk of persistent pulmonary hypertension in the newborn: population based cohort study from the five Nordic countries // *BMJ*, 2012, 344, d8012.

111.Kinast K., Peeters D., Kolk S.M., Schubert D., Homberg J.R. Genetic and pharmacological manipulations of the serotonergic system in early life: neurodevelopmental underpinnings of autism-related behavior // *Front Cell Neurosci.*, 2013, v. 7(72), p. 1-17.

112.Klein-Schwartz W., Benson B.E., Lee S.C., Litovitz T. Comparison of citalopram and other selective serotonin reuptake inhibitor ingestions in children // *Clin. Toxicol (Phila)*, 2012, v. 50(5), p. 418-423.

113.Kummet G.J., Haskell S.E., Hermann G.M., Ni C., Volk K.A., Younes A.K., Miller A. K., and Roghair R.D. Neonatal SSRI exposure programs a hypermetabolic state in adult mice // *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2012, 431574.

114.Kupfer D.J. Pathophysiology and management of insomnia during depression // *Ann Clin Psychiatry*, 1999, v. 11(4), p. 267-276.

115.LaCoursiere D.Y., Barrett-Connor E., O'Hara M.W. The association between prepregnancy obesity and screening positive for postpartum depression // *British J. Obstet. Gynaecol.*, 2010, v. 117(8), p. 1011-1018.

116.Lanzi R.G., Bert S.C., Jacobs B. K. Depression among a sample of first-time adolescent and adult mothers // *J. Child. Adolesc. Psychiatr. Nurs.*, 2009, v. 22(4), p.194-202.

117.Lattimore K.A., Donn S.M., Kaciroti N., Kemper A.R., Neal C.R., Vazquez D.M. Selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) use during pregnancy and effects on the fetus and newborn: a meta-analysis.// *J Perinatol.*, 2005, v. 25(9), p. 595-604.

118.Lauder J.M., Tamir H., Sadler T.W. Serotonin and morphogenesis. I. Sites of serotonin uptake and -binding protein immunoreactivity in the midgestation mouse embryo // *Development*, 1988., v. 102(4), p. 709-720.

119.Layer P.G. Cholinesterases during development of the avian nervous system // *Cell Mol Neurobiol.*, 1991, v. 11(1), p. 7-33.

120.Lee L.J., Lee L.J. Neonatal fluoxetine exposure alters motor performances of adolescent rats // *Developmental Neurobiology*, 2012, v. 72 (8), p. 1122–1132.

121.Li X.C., Li H.D., Zhao B.Y. Serotonin of hippocampus and hypothalamus taking part in the analgesic effect of adrenocorticotrophic hormone in rats // *Zhongguo Yao Li Xue Bao*, 1990, v. 11(1), p. 89-92.

122.Lidov, H.G.W., Molliver, M.E. Immunohistochemical study of the development of serotonergic neurons in the rat CNS // *Brain Res. Bull.*, 1982, v. 9(1), p. 559–604.

123.Lipton J.M., Catania A., Ichiyama T. Marshaling the anti-inflammatory influence of the neuroimmunomodulator alpha-MSH // *News Physiol. Sci.*, 2000, v. 15, p. 192-195.

124.Lopes de Souza S., Nogueira M.I., Bomfim de Jesus Deiro T. C., Manhaes de Castro F. M., Mendes da Silva C., Cesiana da Silva M., Oliveira de Lira L., Azmitia E. C., Manhaes de Castro R. Differential effects on somatic and reflex development by chronic clomipramine treatment // *Physiol. Behav.*, 2004, v. 82(2-3), p. 375– 379.

- 125.Lundy B., Jones N.A., Field T., et al. Prenatal depression effects on neonates // *Infant Behav Dev.*, 1999, v. 22, p. 119-129.
- 126.Maciag D., Coppinger D., Paul I.A. Evidence that the deficit in sexual behavior in adult rats neonatally exposed to citalopram is a consequence of 5-HT₁ receptor stimulation during development // *Brain Res.*, 2006a, v. 1125(1), p. 171–175.
- 127.Maciag D., Simpson K.L., Coppinger D., Lu Y., Wang Y., Lin R.C., Paul I.A. Neonatal antidepressant exposure has lasting effects on behavior and serotonin circuitry // *Neuropsychopharmacology*, 2006, v. 31(1), p. 47-57.
- 128.Mackay F.J., Dunn N.R., Wilton L.V., Pearce G.L., Freemantle S.N., Mann R.D. A comparison of fluvoxamine, fluoxetine, sertraline and paroxetine examined by observational cohort studies // *Pharmacoepidemiology and Drug Safety*, 1997, v. 6(4), p. 235–246.
- 129.Malberg J.E., Eisch A.J., Nestler E.J., Duman R.S. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus // *J Neurosci.*, 2000, v. 20(24), p. 9104-9110.
- 130.Mandrioli R., Mercolini L., Saracino M.A., Raggi M.A. Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs): therapeutic drug monitoring and pharmacological interactions // *Curr Med Chem.*, 2012, v. 19(12), p. 1846-63.
- 131.Manhres de Castro R., Barreto Medeiros J.M., Mendes da Silva C., Ferreira L.M., Guedes R.C., Cabral Filho J.E., Costa J.A. Reduction of intraspecific aggression in adult rats by neonatal treatment with a selective serotonin reuptake inhibitor // *Braz J Med Biol Res.*, 2001, v. 34(1), p. 121-124.
- 132.Mantovani M., Dooley D.J., Weyerbrock A., Jackisch R., Feuerstein T.J. Differential inhibitory effects of drugs acting at the noradrenaline and 5-hydroxytryptamine transporters in rat and human neocortical synaptosomes // *British Journal of Pharmacology*, 2009, v. 158, p. 1848–1856.
- 133.Marsella M., Ubaldini E., Solinas A., Guerrini P. Prenatal exposure to serotonin reuptake inhibitors: a case report // *Italian Journal of Pediatrics*, 2010, v. 36, p. 27.
- 134.Marshall A.M., Hernandez L.L., Horseman N.D. Serotonin and serotonin transport in the regulation of lactation // *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2014, v. 19(1), p. 139-146.
- 135.Maurer-Spurej E., Pittendreigh C., Misri S., Platelet serotonin levels support depression scores for women with postpartum depression // *Psychiatry Neurosci.*, 2007, v. 32(1), p. 23-29.
- 136.McGaugh J.L., Roozendaal B. Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain // *Current Opinion in Neurobiology*, 2002, v. 12, p. 205-210.
- 137.Mendes da Silva C., Goncalves L., Manhaes-de-Castro R., Nogueira M. I. Postnatal fluoxetine treatment affects the development of serotonergic neurons in rats // *Neurosci. Let.*, 2010, v. 483(3), p. 179–183.
- 138.Mesquita A.R., Pego J.M., Summavielle T., Maciel P., Almeida O. F. X., Sousa N. Neurodevelopment milestone abnormalities in rats exposed to stress in early life // *Neuroscience*, 2007, v. 147(4), p. 1022–1033.
- 139.Mirsky J.A., Miller R., Stein M. Relation of adrenocortical activity and adaptive behaviour // *Psychosomatic Medicine*, 1953, v. 15, p. 574-584.
- 140.Misri S., Kostaras X. The use of SSRIs in pregnant and lactating women[abstract S5]. // *Archives of Women's Mental Health*, 2001, v. 3(2), p. 2.
- 141.Moses-Kolko E.L., Bogen D., Perel J., Bregar A., Uhl K., Levin B., Wisner K.L. Neonatal signs after late in utero exposure to serotonin reuptake inhibitors // *JAMA*, 2005, v. 293(19), p. 2372-2383
- 142.Mozayani M. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors // *Handbook of Drug Interactions*, 2012, p. 215-227.
- 143.Muck-Seler D., Pivac N., Diksic M. Acute treatment with fluvoxamine elevates rat brain serotonin synthesis in some terminal regions: An autoradiographic study // *Nuclear Medicine and Biology*, 2012, v. 39, p. 1053–1057.
- 144.Nestler E. J., Barrot M., DiLeone R. J., et al. Neurobiology of depression // *Neuron.*, 2002, v. 34, p. 13-25.

145. Neumeister A., Young T., Stastny J. Implications of genetic research on the role of the serotonin in depression: emphasis on the serotonin type 1A receptor and the serotonin transporter // *Psychopharmacology*, 2004, v. 174(4), p. 512–524.
146. Nijenhuis C.M., ter Horst P.G., van Rein N., Wilffert B., de Jong-van den Berg L.T. Disturbed development of the enteric nervous system after in utero exposure of selective serotonin re-uptake inhibitors and tricyclic antidepressants. PART 1: Literature review // *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2011, v. 73(1), p. 16–26.
147. Nordeng H., Lindemann R., Perminov K. V., et al. Neonatal withdrawal syndrome after in utero exposure to selective serotonin reuptake inhibitors // *Acta Paediatr.*, 2001, v. 90(3), p. 288–291.
148. Nulman I., Rovet J., Stewart D.E., Wolpin J., Gardner H.A., Theis J.G., Kulin N., Koren G. Neurodevelopment of children exposed in utero to antidepressant drugs // *The New England Journal of Medicine*, 1997, v. 336(4), p. 258–262.
149. Nulman I., Rovet J., Stewart D.E., Wolpin J., Pace-Asciak P., Shuhaiber S., Koren G. Child development following exposure to tricyclic antidepressants or fluoxetine throughout fetal life: a prospective controlled study // *Am J Psychiatry*, 2002, v. 159(11), p. 1889–1895.
150. Nyakas C., Levay G., Viltsek J. Effects of neonatal ACTH4-10 administration on adult adaptive behavior and brain tyrosine hydroxylase activity // *Dev. Neurosci.*, 1981, v. 4(3), p. 225–232.
151. Oberlander T.F., Warburton W., Misri S. and et.al. Neonatal Outcomes After Prenatal Exposure to Selective Serotonin Reuptake Inhibitor Antidepressants and Maternal Depression Using Population-Based Linked Health Data // *Arch Gen Psychiatry*, 2006, v. 63(8), p. 898–906.
152. Oh J.E., Zupan B., Gross S., Toth M. Paradoxical anxiogenic response of juvenile mice to fluoxetine // *Neuropsychopharmacology*, 2009, v. 34(10), p. 2197–2207.
153. Olivier J.D., Akerud H., Kaihola H., Pawluski J.L., Skalkidou A., Högberg U., Sundström-Poromaa I. The effects of maternal depression and maternal selective serotonin reuptake inhibitor exposure on offspring // *Front Cell Neurosci.*, 2013, v. 7(73), p. 1–15.
154. Olivier J.D., Blom T., Arentsen T., Homberg J.R. The age-dependent effects of selective serotonin reuptake inhibitors in humans and rodents: A review. // *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.*, 2011, v. 35(6), p. 1400–1408.
155. Olivier J.D., Van Der Hart M.G., Van Swelm R.P., Dederen P.J., Homberg J.R., Cremers T., Deen P.M., Cuppen E., Cools A.R., Ellenbroek B.A. A study in male and female 5-HT transporter knockout rats: an animal model for anxiety and depression disorders // *Neuroscience*, 2008, v. 152(3), p. 573–584.
156. Omori I.M., Watanabe N., Nakagawa A., Cipriani A., Barbui C., McGuire H., Churchill R., Furukawa T.A. Fluvoxamine versus other anti-depressive agents for depression // *Cochrane Database Syst Rev.*, 2010, v. 17, CD006114.
157. Orlando R., De Martin S., Andrlghetto L., Floreanl M., Palatini P. Fluvoxamine pharmacokinetics in healthy elderly subjects and elderly patients with chronic heart failure // *British Journal of Clinical Pharmacology*, 2009, v. 69(3), p. 279–286.
158. Ornoy A., Koren G. Selective serotonin reuptake inhibitors in human pregnancy: On the way to resolving the controversy // *Semin Fetal Neonatal Med.*, 2014, v. 19(3), p. 188–194.
159. Owens M.J., Nemeroff C.B. Role of serotonin in the pathophysiology of depression: focus on the serotonin transporter // *Clin Chem.*, 1994, v. 40(2), p. 288–295.
160. Park D.H., Paivarinta H., Joh T.H. Tryptophan hydroxylase activity in hypothalamus and brainstem of neonatal and adult rats treated with hydrocortisone or parachlorophenylalanine // *Neurosci. Res.*, 1989, v. 7(1), p. 76–80.
161. Pawluski J.L., Brain U.M., Underhill C.M., Hammond G.L., Oberlander T.F. Prenatal SSRI exposure alters neonatal corticosteroid binding globulin, infant cortisol levels, and emerging HPA function // *Psychoneuroendocrinology*, 2012, v. 37(7), p. 1019–1028.

162. Pedersen L.H., Henriksen T.B., Bech B.H., Licht R.W., Kjaer D., Olsen J. Prenatal antidepressant exposure and behavioral problems in early childhood--a cohort study // *Acta Psychiatr Scand.*, 2013, v. 127(2), p. 126-135.
163. Plaznik F., Kostowski W., Arsher T. Serotonin and depression: old problem and new data // *Progr. Neuro-Psychopharmacol. and Biol. Psychiatr.*, 1989, v. 13, p. 623-627.
164. Popa D., Lena C., Alexandre C., Adrien J. Lasting syndrome of depression produced by reduction in serotonin uptake during postnatal development: evidence from sleep, stress, and behavior // *J Neurosci.*, 2008, v. 28(14), p. 3546-3554.
165. Popova N.K., Naumenko V.S. 5-HT_{1A} receptor as a key player in the brain 5-HT system // *Rev Neurosci.*, 2013, v. 24(2), p. 191-204.
166. Rampono J., Simmer K., Ilett K.F., Hackett L.P., Doherty D.A., Elliot R., Kok C.H., Coenen A., Forman T. Placental transfer of SSRI and SNRI antidepressants and effects on the neonate // *Pharmacopsychiatry*, 2009, v. 42(3), p. 95-100.
167. Renard C.E., Fiocco A.J., Clenet F., Hascoet M., Bourin M. Is dopamine implicated in the antidepressant-like effects of selective serotonin reuptake inhibitors in the mouse forced swimming test // *Psychopharmacology*. 2001, v. 159(1), p. 42-45.
168. Renoir T. Selective serotonin reuptake inhibitor antidepressant treatment discontinuation syndrome: a review of the clinical evidence and the possible mechanisms involved // *Front Pharmacol.*, 2013, v. 4(45), p. 2-10.
169. Rheins L.A., Coteleur A.L., Kleier R.S., Hoppenjans W.B., Saunderson D.N., Nordlund J.J. Alfa-melanocyte-stimulating hormone modulates contact hypersensitivity responsiveness in C57/BL6 mice // *J. Invest. Dermatol.*, 1989, v. 93(4), p. 511-517.
170. Rind H.B., Russo A.F., Whittemore S.R. Developmental regulation of tryptophan hydroxylase messenger RNA expression and enzyme activity in the raphe and its target fields // *Neuroscience*, 2000, v. 101(3), p. 665-677.
171. Rodriguez-Porcel F., Green D., Khatri N., Harris S.S., May W.L., Lin R.C., Paul I.A. Neonatal exposure of rats to antidepressants affects behavioral reactions to novelty and social interactions in a manner analogous to autistic spectrum disorders // *Anat Rec (Hoboken)*, 2011, v. 294(10), p. 1726-35.
172. Ronfeld R.A., Tremaine L.M. and Wilner K.D. Pharmacokinetics of sertraline and its N-demethyl metabolite in elderly and young male and female volunteers // *Clin. Pharmacokinet.*, 1997, v. 32 Suppl.1, p. 22-30.
173. Rosa-Alcázar A.I., Iniesta-Sepulveda M., Rosa-Alcázar A. Pharmacological treatments for obsessive-compulsive disorder in children and adolescents: A qualitative review // *Actas Esp Psiquiatr.*, 2013, v. 41(3), p. 196-203.
174. Ruedi-Bettschen D., Zhang W., Russig H., Ferger B., Weston A., Pedersen E.M., Feldon J., Pryce C.R. Early deprivation leads to altered behavioural, autonomic and endocrine responses to environmental challenge in adult Fischer rats // *European Journal of Neuroscience*, 2006, v. 24(10), p. 2879-2893.
175. Sarkar A., Chachra P., Vaidya V.A. Postnatal Fluoxetine-Evoked Anxiety Is Prevented by Concomitant 5-HT_{2A/C} Receptor Blockade and Mimicked by Postnatal 5-HT_{2A/C} Receptor Stimulation // *Biol Psychiatry*, 2014, v. 76(11), p. 858-868.
176. Schiöth H.B., Mutulis F., Mucience R., Prusis P., Wikberg J.E. Discovery of novel melanocortin₄ receptor selective MSH analogues // *Brit. J. Pharmacol.*, 1998a, v. 124 (1), p. 75-82.
177. Schneider T., Turczak J., Przewłocki R. Environmental enrichment reverses behavioral alterations in rats prenatally exposed to valproic acid: issues for a therapeutic approach in autism // *Neuropsychopharmacology*, 2006, v. 31(1), p. 36-46.
178. Semple B.D., Blomgren K., Gimlin K., Ferriero D.M., Noble-Haeusslein L.J. Brain development in rodents and humans: Identifying benchmarks of maturation and vulnerability to injury across species // *Prog Neurobiol.*, 2013, v. 106-107, p. 1-16.

179. Shinozaki T., Kimura M., Hosoyamada M., Shibasaki T. Fluvoxamine inhibits weight gain and food intake in food restricted hyperphagic Wistar rats // *Biol Pharm Bull.*, 2008, v. 31(12), p. 2250-2254.
180. Shirayama Y., Chen A.C., Nakagawa S., Russell D.S., Duman R.S. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression // *J Neurosci.*, 2002, v. 22(8), p. 3251-61.
181. Slominski A., Wortsman J., Luger T., Paus R., Solomon S. Corticotropin Releasing Hormone and Proopiomelanocortin Involvement in the Cutaneous Response to Stress // *Physiol. Ev.*, 2000, v. 80, p. 979-1020.
182. Smith M.V., Sung A., Shah B., Mayes L., Klein D.S., Yonkers K.A. Neurobehavioral assessment of infants born at term and in utero exposure to serotonin reuptake inhibitors // *Early Hum. Dev.*, 2013, v. 89(2), p. 81-86.
183. Starowicz K., Przewlocka B. The role of melanocortins and their receptors in inflammatory processes, nerve regeneration and nociception // *Life Sci.*, 2003, v. 73(7), p. 823-847.
184. Stasi C., Bellini M., Bassotti G., Blandizzi C., Milani S. Serotonin receptors and their role in the pathophysiology and therapy of irritable bowel syndrome // *Tech Coloproctol.*, 2014, v. 18(7), p. 613-621.
185. Stein A., Artech A., Lehtonen A. Interpretation of infant facial expression in the context of maternal postnatal depression // *Infant Behav. Dev.*, 2010, v. 33(3), p. 273-278.
186. Stenfors C., Ross S.B. Evidence for involvement of 5-hydroxytryptamine(1B) autoreceptors in the enhancement of serotonin turnover in the mouse brain following repeated treatment with fluoxetine // *Life Sci.*, 2002, v. 71(24), p. 2867-2880.
187. Stephansson O., Kieler H., Haglund B., Artama M., Engeland A., Furu K., Gissler M., Norgaard M., Nielsen R.B., Zoega H., Valdimarsdóttir U. Selective serotonin reuptake inhibitors during pregnancy and risk of stillbirth and infant mortality // *JAMA*, 2013, v. 309(1), p. 48-54.
188. Strand F.L., Rose K.J., King J.A., Segarra A.C., Zuccarelli L.A. ACTH modulation of nerve development and regeneration // *Prog. Neurobiol.*, 1989, v. 33(1), p. 45-85.
189. Sung Y.H., Shin M.S., Cho S., Baik H.H., Jin B.K., Chang H.K., Lee E.K., Kim C.J. Depression-like state in maternal rats induced by repeated separation of pups is accompanied by a decrease of cell proliferation and an increase of apoptosis in the hippocampus // *Neurosci Lett.*, 2010, v. 470(1), p. 86-90.
190. Thompson B.L., Levitt P., Stanwood G.D. Prenatal exposure to drugs: effects on brain development and implications for policy and education // *Nature reviews Neuroscience*, 2009, v. 10(4), p. 303-312.
191. Trouvin J.H., Gardier A.M., Chanut E., Pages N., Jacquot C. Time course of brain serotonin metabolism after cessation of long-term fluoxetine treatment in the rat // *Life Sci.*, 1993, v. 52 (18), p. 187-192.
192. Tuccori M., Testi A., Antonioli L., Fornai M., Montagnani S., Ghisu N., Colucci R., Corona T., Blandizzi C., Del Tacca M. Safety concerns associated with the use of serotonin reuptake inhibitors and other serotonergic/noradrenergic antidepressants during pregnancy: a review // *Clin. Ther.*, 2009, v. 31 part 1, p. 1426-1453.
193. Udechuku A., Nguyen T., Hill R., Szego K. Antidepressants in pregnancy: a systematic Review // *Aust N Z J Psychiatry*, 2010, v. 44(11), p. 978-996.
194. Van Vliet I.M., Den Boer J.A., Westenberg H.G.M. Psychopharmacological treatment of social phobia; a double blind placebo controlled study with fluvoxamine // *Psychopharmacology*, 1994, v. 115(1-2), p. 128-134.
195. Vergoni A.V., Poggioli R., Bertolini A. Corticotropin inhibits food intake in rats // *Neurosci.*, 1986, v. 7(2), p. 153-158.
196. Vergoni A.V., Poggioli R., Marrama D., Bertolini A. Inhibition of feeding by ACTH(1-24): behavioral and pharmacological aspects // *Eur. J. Pharmacol.*, 1990, v. 179, p. 347-355.

197. Vorhees C.V., Acuff-Smith K.D., Schilling M.A., Fisher J.E., Moran M.S., Buelke-Sam J. A developmental neurotoxicity evaluation of the effects of prenatal exposure to fluoxetine in rats // *Toxicological Sciences*, 1994, v. 23(2), p. 194-205.
198. Walker J.M., Berntson G.G., Sandman C.A., Kastin A.G., Akil H. Induction of analgesia by central administration of ORG 2766, an analog of ACTH 4-9 // *Eur. J. Pharmacol.*, 1981, v. 69(1), p. 71-79.
199. Weaver K.J., Paul I.A., Lin R.C., Simpson K.L. Neonatal exposure to citalopram selectively alters the expression of the serotonin transporter in the hippocampus: dose-dependent effects // *Anat Rec (Hoboken)*, 2010, v. 293(11), p. 1920-1932.
200. Wen S.W., Yang Q., Garner P., Fraser W., Olatunbosun O., Nimrod C., Walker M. Selective serotonin reuptake inhibitors and adverse pregnancy outcomes // *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2006, v. 194(4), p. 961-966.
201. West C. H. K., Ritchie J. C., Weiss J. M. Paroxetine-induced increase in activity of locus coeruleus neurons in adolescent rats: implication of a countertherapeutic effect of an antidepressant // *Neuropsychopharmacology*, 2010, v. 35, p. 1653-1663.
202. Wikberg J. E. C., Muceniece R., Mandrika I., Prusis P., Lindblom J., Post C., Skottner A. New aspects on the melanocortins and their receptors // *Pharmacol. Res.*, 2000, v. 42 (5), p. 393-420.
203. Wikberg J.E.C. Melanocortin receptors: perspectives for novel drugs // *Eur. J. Pharmacol.*, 1999, v. 375 (1-3), p. 295-310.
204. Wikberg J.E.S. Melanocortin receptors: new opportunities in drug discovery // *Exp. Opin. Ther. Patents.*, 2001, v. 11(1), p. 1-16.
205. Wisner K.L., Mozes-Kolko E.L., Sit D.K.Y. Postpartum depression: a disorder in search of a definition // *Arch. Womens Meant. Health*, 2009, v. 13(1), p. 37-40.
206. Wisner K.L., Zarin D.A., Holmboe E.S., Appelbaum P.S., Gelenberg A.J., Leonard H.L., Frank E. Risk-Benefit Decision Making for Treatment of Depression During Pregnancy // *Am J Psychiatry*, 2000, v. 157(12), p. 1933-1940.
207. Wixey J.A., Reinebrant H.E., Buller K.M. Evidence that the serotonin transporter does not shift into the cytosol of remaining neurons after neonatal brain injury // *Neuroscience Research*, 2012, v. 73(3), p. 252-256.
208. Yang L.M., Hu B., Xia Y.H., Zhang B.L., Zhao H. Lateral habenula lesions improve the behavioral response in depressed rats via increasing the serotonin level in dorsal raphe nucleus // *Behav. Brain Res.*, 2008, v. 188(1), p. 84-90.
209. Yasumoto S., Tamura K., Karasawa J., Hasegawa R., Ikeda K., Yamamoto T., Yamamoto H. Inhibitory effect of selective serotonin reuptake inhibitors on the vesicular monoamine transporter 2 // *Neuroscience Letters*, 2009, v. 454(3), p. 229-232.
210. Yonkers K.A., Wisner K.L., Stewart D.E., Oberlander T.F., Dell D.L., Stotland N., Ramin S., Chaudron L., Lockwood C. The management of depression during pregnancy: a report from the American Psychiatric Association and the American College of Obstetricians and Gynecologists // *Gen. Hosp. Psychiatry*, 2009, v. 31(5), p. 403-413.
211. Zheng J., Xu Da-F, Li Kui, Wang Hong-T., Shen Peng-Cheng, Lin M., Cao Xiao-Hua, Wang R. Neonatal exposure to fluoxetine and fluvoxamine alters spine density in mouse hippocampal CA1 pyramidal neurons // *Int J Clin Exp Pathol.*, 2011, v. 4(2), p. 162-168.