Главный редактор
Калуев А.В.
к.б.н., PhD,
Национальный институт психического здоровья, Бетесда, США

Заместители главного редактора
Буриков А.А.
д.б.н. проф., зав. каф. общей биологии, Ростовский государственный педагогический университет, Ростов-на-Дону
Сидоров П.И.
д.м.н. проф. академик РАМН, ректор Северного государственного медицинского университета, Архангельск

Ответственный секретарь
Зиневич Н.А.
Университет Тампере, Тампере, Финляндия

Редакторы секций

Биологическая аддиктология
Соловьев А.Г.
д.м.н. проф., зав. каф. наркологии и токсикологии, проректор Северного государственного медицинского университета, Архангельск

Молекулярная нейробиология
Пастухов Ю.Ф.
д.б.н. проф., зав. лаб. института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова РАН, Санкт-Петербург

Нейроиммунофизиология
Клименко В.М.
д.м.н. проф., зав. физиологическим отделом им. И.П. Павлова, Институт экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург

Нейрофармакология
Шабанов П.Д.
д.м.н. проф., зав. каф. Фармакологии Военно-Медицинской академии, Санкт-Петербург

Нейрофизиология
Фингелькурц Ан.А., Фингелькурц Ал.А.
к.б.н., рук. Центра научных технологий по изучению мозга и психики, Эспу, Финляндия

Нейроэтология, нейрохимия и нейрогенетика поведения
Калуев А.В.
к.б.н., PhD, Национальный институт здоровья, Национальный институт психического здоровья, Бетесда, США

Проблемы сомнологии
Ковальзон В.М.
д.б.н. проф., в.н.с., Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН, Москва

Клиническая и биологическая психиатрия
Сыропятов О.Г.
д.м.н. проф., президент Российского общества биопсихиатрии, директор Исследовательского центра консультативной психиатрии и психотерапии, Киев, Украина

Сенсорные системы
Макарчук Н.Е.
д.б.н. проф., директор НИИ физиологии им. П. Богача, зав. каф. физиологии человека и животных Киевского Национального Университета, Киев, Украина

Теоретическая нейробиология и нейрокибернетика
Вербицкий Е.В.
к.б.н., зав. лаб., НИИ нейрокибернетики им. А.Б. Когана РГУ, Ростов-на-Дону

Эволюционная нейробиология
Соллертинская Т.Н.
д.б.н. проф., в.н.с., Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М.Сеченова РАН, Санкт-Петербург

Эпилептология
Чепурнов С.А.
д.б.н. проф., биологический фаультет, МГУ, Москва
Кириленко Я.В.
Dr. Med., психиатрическая клиника Бремена, Германия

Клиническая неврология
Грачев Ю.В.
д.м.н., в.н.с., НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва

История нейронаук
Голиков Ю.П.
к.б.н., рук. музея истории ИЭМ, Институт экспериментальной медицины РАМН, Санкт-Петербург

Нейронауки

Международный научно-практический журнал

1(3)—2006

Содержание номера

Нейрохимия

Горбунова А.В.
Биогенные амины мозга и устойчивость сердечно-сосудистых функций к эмоциональному стрессу 3

Муровец В.О., Ленцман М.В., Артемьева А.И., Балестрино М., Поленов С.А.
Креатин эффективен для профилактики неврологических и когнитивных нарушений, вызванных глобальной ишемией головного мозга у крыс 20

Сенсорные системы

Панфилов П.Б.
Вероятностно-статистическое обоснование достоверности ольфакторных исследований запаховых следов человека в судебной экспертизе с использованием собак-детекторов 24

Клиническая неврология

Свирский А.В., Сидоров П.И., Соловьев А.Г.
Алгоритм диагностики перинатальных поражений головного мозга у детей раннего возраста 30

Нейроэтология и нейрогенетика поведения

Калуев А.В.
Принципы экспериментального моделирования тревожно-депрессивного патогенеза 34

Editorial Board

Editor-in-Chief

Allan V. Kalueff
PhD, National Institute of Mental Health, Bethesda (USA)

Co-Editors

Aleksei A. Burikov
Prof., PhD, DSci,
Rostov State University (Russia)

Pavel I. Sidorov
Acad. Prof., PhD, MD,
Northern State Medical University (Russia)

Secretary

Natalia A. Zinevych
PE, University of Tampere, Tampere, Finland

Section Editors

Biological Addictology
Andrey G. Solovyov
Prof., PhD, MD,
Northern State Medical University (Russia)

Molecular Neurobiology
Yuriy F. Pastuhov
Prof., PhD, DSci, Institute of Evolutionary
Physiology and Biochemistry (Russia)

Neuroimmunophysiology
Viktor M. Klimenko
Prof., PhD, MD, Institute of Experimental Medicine
(Russia)

Neuropsychopharmacology
Petr D. Shabanov
Prof., PhD, MD, Military Medical Academy (Russia)

Neurophysiology
Andrei A. Fingelkurts
Aleksander A. Fingelkurts
PhD, PhD, Brain and Mind Technologies
Research Center (Finland)

Behavioural Neuroscience,
Neurogenetics and Neurochemistry
Allan V. Kalueff
PhD, National Institute of Health,
National Institute of Mental Health, Bethesda (USA)

Somnology
Vladimir M. Kovalzon
Prof., PhD, DSci, Institute of Ecology
and Evolution (Russia)

Clinical and Biological Psychiatry
Oleg G. Syropiatov
Prof., PhD, MD, Psychiatry and
Psychotherapy Research Center (Ukraine)

Sensory Systems
Nikolai E. Makarchuk
Prof., PhD, DSci, Kiev National University (Ukraine)

Theoretical Neuroscience
and Neurocybernetics
Evgeniy V. Verbitskyy
PhD, Neurocybernetics Research Institute (Russia)

Evolutionary Neuroscience
Tatyana N. Sollertinskaya
Prof., PhD, DSci, Institute of Evolutionary Physiology
and Biochemistry (Russia)

Epileptology
Sergey A. Chepurnov
Prof., PhD, DSci, Biology faculty,
Moscow State University (Russia)
Yana V. Kyrylenko
MD, Psychiatry Clinic Bremen (Germany)

Clinical Neurology
Yuriy V. Grachev
PhD, MD, Institute of General Pathology
and Pathophysiology (Russia)

History of Neuroscience
Yuriy P. Golikov
PhD, Museum of IEM History,
Institute of Experimental Medicine (Russia)

The Russian Journal of Neuroscience

Official Journal of The Russian Neuroscience Society
and The Russian Society for Biopsychiatry

1(3)—2005

Content

Neurochemistry

Gorbunova A.V.
Brain content of biogenic amines and stability of cardio-vascular reaction under emotional stress 3

Mourovets V.O., Lensman M.V., Artemjeva A.I., Balestrino M., Polenov S.A.
Creatine is effective in the prevention of neurological and the reduction of cognitive disturbances induced by global cerebral ischemia in rats 20

Sensory Systems

Panfilov P.B.
Probability-based sophisticated method to improve reliability of forensic olfactory detection by dogs 24

Clinical Neurology

Svirsky A.V., Sidorov P.I., Soloviev A.G.
Algorithm of brain perinatal lesions diagnosis in children at early age 30

Behavioural Neuroscience and Neurogenetics

Kalueff A.V.
Principles of experimental modeling of anxiety and depression 34

Биогенные амины мозга и устойчивость сердечно-сосудистых функций к эмоциональному стрессу

ГОРБУНОВА А.В.

Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва

Изучали обмен биогенных аминов (высокоэффективная жидкостная хроматография с электрохимической детекцией) в узловатом блуждающего нерва, в звездчатом и верхнем шейном симпатических ганглиях, в отделах центральной нервной системы, ответственных за регуляцию сердечно-сосудистых реакций у крыс Вистар и Август, а также у кроликов породы Шиншилла с учетом их индивидуальных характеристик в условиях эмоциональных стрессов разной продолжительности. Установлена связь метаболической активности ганглиев вегетативной нервной системы с динамикой артериального давления в условиях острого экспериментального эмоционального стресса. Выявлено, что исходное содержание биогенных аминов в отделах нервной системы, зависящее в свою очередь от поведенческих характеристик животных, определяет характер стрессорной реакции. Полученные данные дают возможность полагать, что соотношению активностей стресс реализующей системы норадреналина и стресс-лимитирующих систем дофамина, серотонина, адреналина принадлежит определяющее значение в формировании устойчивости сердечно-сосудистых реакций.

Ключевые слова: *мозг, биогенные амины, артериальное давление, эмоциональный стресс, крысы Август и Вистар, кролики породы Шиншилла, открытое поле, пищедобывательная конкуренция*

Введение

В настоящее время установлено, что эмоциональный стресс — причина многих заболеваний. Гипертоническая болезнь, инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца могут иметь в своей основе в качестве патогенетического механизма эмоционально-стрессовые факторы. Реакция на стресс в значительной степени зависит от индивидуальной реактивности человека и животных, от состояния их нейрорегуляторных механизмов [1, 2, 3]. Показано, что эмоциональное возбуждение, первоначально складывающееся на уровне гипоталамо-лимбико-ретикулярных структур мозга, генерализованно распространяется в восходящем направлении на кору больших полушарий, а в нисходящем — через вегетативную нервную ситему на различные внутренние органы. Основой эмоциональных стрессов является формирование в ЦНС "застойного" возбуждения, происходящее с обязательным участием моноаминергических систем мозга.

При изучении центральных нейрохимических механизмов устойчивости к эмоциональному стрессу установлены нарушения обмена биологически активных веществ в различных отделах мозга, которые могут лежать в основе патологических синдромов, развивающихся при стрессе [2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11].

Известно, что вазомоторный центр продолговатого мозга, находящийся под контролем вышележащих центров, осуществляет тоническую иннервацию симпатических центров спинного мозга. Симпатической нервной системе отводят значительную роль в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний разной этиологии [12, 13, 14]. В связи с этим при выяснении механизмов устойчивости сердечно-сосудистых функций к действию стрессогенных факторов важное значение приобретает изучение ее активности. Как следует из данных литературы, активность симпатической нервной системы в условиях стресса оценивали главным образом по содержанию норадреналина в крови. Тем не менее, этот показатель является косвенной характеристикой активности симпатической нервной системы, а сведения, характеризующие степень вовлечения в стрессорные реакции отдельных ее клеточных образований, практически отсутствуют. Представлялось важным изучить при стрессорных нагрузках симпатические — верхний шейный и звездчатый ганглии, иннервирующие сердце и выполняющие адаптационно-трофическую функцию. Известно, что все изменения, происходящие во внутренней среде организма, воспринимаются в первую очередь различными рецепторами, а в случае изменения артериального давления — барорецепторами, клеточные тела которых находятся в узловатом ганглии блуждающего нерва. Афферентная импульсация, идущая с рефлексогенных зон (дуги аорты, каротидного синуса, а также сердца) может изменить активность центра, регулирующего тонус сосудов и сердечную деятельность посредством эфферентной импульсации. Таким образом, при исследовании индивидуальных механизмов устойчивости сердечно-сосудистых функций к эмоциональному стрессу необходимо изучение обмена биогенных аминов в узловатом ганглии блуждающего нерва, звездчатом и верхнем шейном симпатических ганглиев, а также в основных ядрах мозга, ответственных за регуляцию этих ганглиев, у крыс Август и Вистар, а также кроликов породы Шиншилла с разной степенью выраженности сердечно-сосудистых реакций при эмоциональных стрессах разной продолжительности с учетом их индивидуальных характеристик.

Материал и методы исследования

Постановка эксперимента. Экспериментальное моделирование острого эмоционального стресса

Острый эмоциональный стресс вызывали у иммобилизированных кроликов породы Шиншилла одновременным электрическим раздражением вентромедиальных ядер гипоталамуса и разных участков кожи туловища [15]. На протяжении реализации всей стрессорной программы (3 ч) у каждого животного через катетер, вживленный в бедренную ар-

терию, с помощью тензодатчика и мингографа фирмы "Siemens-Elema" регистрировали артериальное давление (АД) и частоту сердечных сокращений. АД в первые 30 мин, как правило, у всех животных повышалось на 30—40 мм рт.ст. с последующим снижением через 1 ч после начала эксперимента. По характеру изменений АД животные были разделены на 2 группы: устойчивые (64%) и предрасположенные (36%) к стрессорным воздействиям. Устойчивые к эмоциональному стрессу животные характеризовались стабилизацией АД на уровне контроля, начинающейся через 1 ч после начала эксперимента, а у предрасположенных к стрессу кроликов наблюдалось прогрессирующее снижение АД с летальным исходом, наступавшим через 2—3 ч при явлениях острой сердечной недостаточности (аритмия, экстрасистолия, фибрилляция желудочков).

Стрессорная программа осуществлялась также на фоне действий ангиотензина-II ("Serva", ФРГ), введенного через канюлю, вживленную в боковой желудочек мозга, в дозах 800—1000 нг в 10 мкл дистиллированной воды перед началом эксперимента [16].

Узловатый (блуждающего нерва), верхний шейный и звездчатый симпатические ганглии, а также головной мозг брали сразу после гибели предрасположенных к стрессу кроликов. Кроме того, исследуемые структуры были взяты через 30, 60 мин и 3 ч после начала эксперимента у кроликов, подвергнутых воздушной эмболии. Контролем служили животные, находившиеся в обычных условиях вивария. Исследовали области мозга: (номенклатура по [17]) аркуатное и перивентрикулярное ядра гипоталамуса; синее пятно и группы нейронов А5 и А7. Образцы крови были взяты через катетер, вживленный в бедренную артерию, перед началом раздражения вентромедиальных ядер гипоталамуса, через 10, 30 и 60 мин после начала стимуляции, а также в момент смерти предрасположенных животных и через 3 ч стимуляции устойчивых к стрессу кроликов.

Опыты проводили также на крысах-самцах Вистар массой 250 г и Август массой 200 г. Всего было исследовано 100 животных. Для характеристики индивидуальных различий животных использовали методику открытого поля [18]. Тестирование животных каждой линии осуществляли в темной звуконепроницаемой комнате в течение 4 последовательных дней по 2 мин в день в вечерние часы. Во время опыта поле было равномерно освещено лампой 100 Вт, укрепленной над его центром на высоте 40 см. В каждой серии опытов учитывали число пересечений квадратов и вставаний на задние лапы. По этим показателям животные обеих линий были разделены на 2 группы [19]. У крыс 1-й группы (с меньшей двигательной активностью) число пересечений и стоек на 4-й день эксперимента было достоверно ниже, чем у животных 2-й группы (с большей двигательной активностью). Спустя 3 дня после тестирования по 7 животных из каждой группы были иммобилизированы (ИМО) в течение 38 ч по схеме: 6 ч ИМО + 2 ч отдыха + 16 ч ИМО + 8 ч отдыха + 16 ч ИМО путем жесткой фиксации лап и головы на доске [20].

Индивидуальные различия выявляли также у крыс-самцов Вистар (36 особей) в процессе формирования иерархических отношений в условиях конкурентной борьбы за пищу [21]. Для этого животных (по 3 самца в каждой группе) помещали в боксы из оргстекла размером 120 30 80 см. Пища поступала в кормушку, к которой вела наклонная лестница длиной 30 см. Отверстие для получения пищи и площадка перед ним имели размеры, не позволявшие 3 крысам одновременно получать пищу. Вследствие этого только одна крыса в каждый данный момент могла принимать пищу. Пища (гранулы стандартного комбикорма) поступала в кормушку один раз в сутки. Пищедобывательный навык у каждого животного закрепляли в течение 14 дней. Затем в тех же условиях после 20 ч пищевой депривации проводили тест на конкуренцию за пищу — в этом случае корм подавали ежедневно в течение часа отдельными порциями (0,6—0,8 г) с интервалом 1 мин. Благодаря ограниченному доступу к пище между животными возникала конкурентная борьба за ее получение. После каждого 1 часа теста осуществлялось кормление крыс до насыщения при свободном доступе к пище. В течение 14 дней тестирования выявляли характер пищедобывательного поведения животных. При этом регистрировали следующие этапы процесса пищедобывания каждого животного: заход на лестницу, на площадку, получение порции пищи, количество побед при конкурентной борьбе за пищу. В основу определения иерархического ранга животных была положена результативность такого пищедобывательного поведения. Доминантным считали самца с максимальным числом побед, необходимым для установления доминирующего положения в группе. После статистической обработки параметров пищедобывательного поведения удалось выделить доминирующих и субдоминирующих животных в каждой группе. Затем 18 крыс обоих рангов — доминантов и субдоминантов — подвергали иммобилизации (ИМО) по схеме: 6 ч ИМО + 2 ч отдыха + 16 ч ИМО + 8 ч отдыха + 16 ч ИМО — путем жесткой фиксации лап и головы на доске. Оставшиеся 18 крыс обоих рангов служили контролем.

Еще в одной серии экспериментов эмоциональный стресс у крыс самцов линии Вистар (наиболее устойчивых) и Август (наиболее предрасположенных) вызывали индивидуальным фиксированием их за хвост к стенке клетки в течение 5 ночей с отдыхом на день (48 ч с перерывом) [22]. Нейротропин вводили внутрибрюшинно: в первой группе (крысы линии Август) — перед каждым привязыванием по 200 нг на крысу, во второй группе (крысы линии Август и Вистар) — перед первым привязыванием 100 нг на животное, а также крысам, находившимся в свободном поведении. Контролем служили животные, содержавшиеся в условиях вивария.

Эмоциональный стресс вызывали [23] также ИМО крыс Вистар (наиболее устойчивых) в плексигласовых тесных клетках в течение 1 ч с дополнительным электрокожным раздражением хвоста по стохастической схеме. Пептид, вызывающий дельта-сон (ПВДС), вводили внутрибрюшинно за 30 мин до взятия животных в эксперимент в дозе 60 нМ/кг.

Кроме того, у крыс Вистар (наиболее устойчивых) массой 200 г методом анодической поляризации проводили [23] двустороннее разрушение структур мозга (медиального ядра перегородки, базолатерального отдела миндалины, ретикулярной формации среднего мозга) согласно координатам стереотаксического атласа мозга крыс [24]. На пятые сутки, после функционального выключения структур мозга, крыс иммобилизировали (в тесных клетках, в течение 1 ч) с одновременным апериодическим электрокожным раздражением.

Эмоциональный стресс вызывали также ИМО (крыс Август и Вистар) в тесных домиках в течение 24 ч [25]. В этих сериях экспериментов брали крыс Август предрасположенных к эмоциональному стрессу, крыс Вистар — с большей двигательной подвижностью в открытом поле (устойчивых к эмоциональному стрессу).

В качестве контроля использовали интактных крыс, содержавшихся в условиях вивария, а также группу крыс, тестированных в открытом поле, но не подвергавшихся ИМО. Интактных крыс, содержавшихся в условиях вивария, к рукам предварительно не приучали. После иммобилизации крыс декапитировали одновременно с контрольными животными. Мозг животных быстро извлекали и замораживали с помощью сухого льда. Области мозга для исследования: вентромедиальное, паравентрикулярное, перивентрикулярное, аркуатное ядра гипоталамуса; срединное возвышение гипофиза, ретикулярную формацию среднего мозга, дорзальное ядро шва, вентральную область покрышки, синее пятно, латеральное и базальное ядра миндалины, медиальное ядро перегородки, дорзальное ядро вагуса, ядро одиночного пучка, группу нейронов А1 у крыс линий Вистар и Август извлекали методом [26] из криостатных срезов толщиной 300 мк.

Определение содержания РНК в отдельных нервных клетках

Из большого числа цитохимических методов были отобраны дающие информацию о показателях, заметно изменяющихся в процессе функционирования нервной системы. Так, результаты биохимических и цитохимических исследований однозначно указывают на наличие связи между состоянием функциональной активности и уровнем метаболизма РНК и белков нервной ткани. Изменение объема нервных клеток также может служить показателем их функционального состояния.

Содержания РНК в отдельных нейронах определяли методом Edstrom [27, 28, 29] в модификации Л.Ф. Максимовского [30], дающего возможность определить в пробе 10—20 пг РНК. Исследуемые ганглии фиксировали в жидкости Карнуа и заливали в парафин. Отдельные нейроны выделяли из срезов толщиной 40 мкм с помощью микроманипулятора Фонбрюна под контролем микроскопа МБИ-3. Затем из отдельных нейронов экстрагировали РНК рибонуклеазой. Содержание РНК в клетах определяли путем фотометрирования полученных экстрактов.

Объем исследуемых нейронов и их ядер определяли по формуле эллипсоида вращения:

$$V = Dd^2/6,$$

где D — большой диаметр, d — малый диаметр.

Большой и малый диаметр исследованных клеток измеряли с помощью винтового окуляр-микрометра МОВ-1-15х.

Определение содержания разных по химическим характеристикам белков в цитоплазме и ядрах нервных клеток

1. Определение содержания белка в нейронах

Сухой вес клетки определяли методом интерферометрии. Так как основу сухого веса клеточных структур составляют белки, то метод интерферометрии получил распространение как способ определения суммарного клеточного белка [31]. Для определения сухого веса нейронов из залитой в парафин ткани на ротационном микротоме готовили срезы толщиной 7 мк. Измерения проводили на интерференционном микроскопе Opton с объективом 40х, окуляром 10х. Измерение разности хода проводили с зеленым фильтром при = 540 ммк, на срезах толщиной 7 мк. Содержание плотных веществ в клетке определяли по формуле:

$$P = S/100 ,$$

где P — содержание плотных веществ, г; — оптическая разность хода в сантиметрах; — удельный коэффициент преломления объекта, равный для белковых веществ 0,0018±2%; S — площадь исследуемой структуры, $см^2$.

Для вычисления площади цитоплазмы из измеренной планиметром площади клетки вычитали площадь измеренного ядра.

2. Содержание водорастворимых белков в исследуемых структурах определяли по методу [32].

Определение содержания биогенных аминов и некоторых продуктов их обмена в структурах мозга и в крови животных

Концентрацию норадреналина (НА), адреналина (А), дофамина (ДА), 3,4-диоксифенилаланина (ДОФА), 3,4-диоксифенилуксусной кислоты (ДОФУК), серотонина (СТ), 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией [33] в модификации. Разделение проводили на хроматографической системе BAS (США). Подвижная фаза состояла из 0,15 М монохлоруксусной кислоты, pH 2,4 (фирма "Sigma", США), содержащей 30 мг/л октилсульфата натрия (BAS) и 0,75 г/л Na_2ЭДТА (фирма "Serva", Германия), 8% ацетонитрила ("Merk", Германия). Скорость тока подвижной фазы через колонку (Biophase ODS, 5 мк; внутренний диаметр 4,1 мм, длина 250 мм) составляла 1 мл/мин. Окисление моноаминов происходило на поверхности рабочего электрода при потенциале 0,65 В. В качестве рабочего электрода был использован стеклоуглеродный, в качестве электрода сравнения — хлорсеребряный.

Гистохимическое определение активности моноаминоксидазы в нейронах

Активность моноаминоксидазы (МАО) выявляли методом Гленнера [34] в срезах (20 мк) замороженной (в криостате при -18 С) нефиксированной ткани. Для количественной оценки гистохимической реакции МАО использовали метод [35], основанный на дискретном измерении плотности диформазана (образовавшегося в результате восстановления нитросинего тетразолия в процессе окислительного дезаминирования субстратов МАО) в срезах на микроскопе ЛЮМАМ-И3 (фирмы ЛОМО) с фотометрической насадкой при длине волны 590 нм, где, по данным литературы, находится максимум поглощения срезов после реакции Гленнера. Фотометрирование проводили с объективом 40х, окуляром 7х, диаметром зонда 0,1 мм. Активность МАО, принятую равной плотности отложения формазана в срезах, выражали в относительных единицах и вычисляли по формуле:

$$E = \lg \Phi_o/\Phi,$$

где Ф — прошедший через препарат световой поток; Φ_o — свет, прошедший через препарат вблизи от среза.

Измерения проводили в клетках с отчетливо различимыми ядром и ядрышком.

В каждой клетке промеряли по 5 точек цитоплазмы вокруг ядра.

Определение активности тирозингидроксилазы в ганглиях вегетативной нервной системы

Активность тирозингидроксилазы (ТГ) в ганглиях определяли в 10 мкл надосадочной жидкости по методу [36]. Каждый ганглий (массой от 2 до 8 мг) гомогенизировали в 80 мкл 5 мМ трис-буфера (pH 6,0), содержащего 0,1%-ный тритон Х-100, и центрифугировали в течение 30 мин при 5000 g. Пробы инкубировали в течение 4 мин при 37 С в 0,1 М фос-

фатном буфере (pH 6,0) в присутствии 80 мкМ ^{3}H-тирозина (удельная активность 13,1 мКи/ммоль, СССР), 0,7 мМ 6,7-диметил-5,6-7,8-тетрагидроптерина-HCl (фирма "Serva", Германия) и 0,3 М меркаптоэтанола ("Serva"). Общий объем инкубационной смеси 20 мкл. Реакцию останавливали добавлением 250 мкл 0,4 N $HClO_4$, содержащего 0,4 мкг немеченого ДОФА ("Serva"). ^{3}H-ДОФА был отделен от ^{3}H-тирозина на колонке с Al_2O_3 (Д-7 мм) хроматографически, которая затем была промыта последовательно 5 и 15 мл 0,005 М трис-буфера pH 8,6. ^{3}H-ДОФА элюировали 1,5 мл 0,5 М CH_3COOH. 1 мл элюата добавляли к 10 мл сцинтилляционной жидкости (состав 1 л: толуол — 666 мл, тритон X-100 — 333 мл, PPO — 4 г, POPOP — 0,1 г). Активность тирозингидроксилазы выражали в пикомолях ДОФА на 1 мг белка за 1 мин. Опытные пробы содержали белка от 2 до 10 мг/мл. Содержание белка определяли по [32].

Статистический анализ экспериментального материала

Весь цифровой материал обрабатывали методами вариационной статистики с использованием критерия Сьюдента и непараметрического критерия Ван-дер-Вардена.

Результаты и их обсуждение

Обмен белков и РНК в структурах автономной нервной системы при остром экспериментальном эмоциональном стрессе

Установлено, что во время эмоционального стресса у кроликов, предрасположенных к его развитию с прогрессивно снижающимся АД изменяется метаболическая активность структур как симпатической нервной системы, так и блуждающего нерва. При этом в звездчатом узле и симпатическом стволе изменения метаболической активности проходили с преобладанием анаболических процессов, на что указывает повышение содержания в них водорастворимых белков (соответственно на 16 и 24%), особенно важных для осуществления клеточных функций, в том числе обеспечения синтеза медиаторов. В верхнем шейном узле наблюдалось снижение содержания структурных белков в цитоплазме(на 15%) и ядрах одноядерных (на 39%) и ядрах двуядерных (на 28%) нейронов, протекавших на фоне сохранения содержания водорастворимых белков на уровне нормы. Отмеченное в узловатом ганглии снижение содержания водорастворимых белков (на 20%) и белков в ядрах (на 9%) нервных клеток (а также появление большого количества лизосом, увеличение их размеров, повышение активности лизосомных ферментов — кислой фосфатазы и аминопептидазы; увеличение числа аутофагических вакуолей [37, 38]), свидетельствовало о преобладании в нем катаболических процессов. Это кажется вероятным, поскольку обнаруженное повышение концентрации белка — содержание белка на единицу объема — в ядрах (на 7%) и цитоплазме (на 12%) нейронов узловатого ганглия не указывает на снижение в них скорости синтеза белка. Преобладание в узловатом ганглии катаболических процессов, вероятно, свидетельствует о функциональном перенапряжении его структур. Возможно, что в условиях стресса при действии чрезвычайного раздражителя происходит быстрая мобилизация резервов организма, причем в этом случае энергия может образовываться и за счет включения аминокислот, высвободившихся в результате распада белков, в энергообразующие процессы. Уменьшение объема ядер и цитоплазмы нервных клеток могло явиться следствием уменьшения численности макромолекул.

Поскольку РНК играют первостепенную роль в процессах биосинтеза белка, представлялось важным выяснить, изменяется ли содержание РНК в нейронах узловатого ганглия блуждающего нерва и нейронах симпатических ганглиев кроликов при остром эмоциональном стрессе. Как показали проведенные нами исследования, у предрасположенных к стрессу кроликов в нейронах узловатого ганглия и симпатического звездчатого ганглия наблюдалось достоверное по сравнению с контролем повышение содержания суммарной РНК (на 30 и 23%). Таким образом, однонаправленные с изменением концентрации белка изменения содержания РНК в клетках звездчатого ганглия у предрасположенных к стрессу животных также указывают на повышенную активность исследуемых структур. В узловатом ганглии блуждающего нерва у этих животных отмечено снижение содержания белков как в ядре, так и в цитоплазме. Выявленное повышение содержания РНК в клетках узловатого ганглия, как и увеличение концентрации белка в ядре и цитоплазме этих нейронов, свидетельствуют, что причиной снижения содержания белков в исследуемых структурах является не снижение скорости синтеза белков, а увеличение скорости их распада.

Биогенные амины в верхнем шейном и звездчатом ганглиях при эмоциональном стрессе

Одним из путей, имеющим решающее значение в эфферентном осуществлении стресс-реакции, является возбуждение симпатико-адреналовой системы, сопровождающееся массированным выбросом НА из терминальных отделов адренергических нервов. Показано, что при стрессе [39, 40, 41] около 70% циркулирующего НА приходится на НА из симпатических нервных окончаний и около 30% НА и весь А имеют надпочечниковое происхождение. В условиях действия эмоционального стресса у всех исследованных кроликов повышалось содержание НА в крови, указывающее на активацию симпатической нервной системы. У кроликов, устойчивых и предрасположенных к развитию стресса, выявлена разная степень ее активации. В первые 30 мин после начала стрессорной программы отмечено повышение АД у кроликов обеих групп. При этом у животных, предрасположенных к развитию нарушений сердечно-сосудистых функций, к 30 мин эксперимента повышалась симпатическая активность, сопровождавшаяся увеличением содержания НА в крови на 160% (контроль — 425±95 пг/мл, 10 мин эксперимента — 1156±195 пг/мл; 30 мин — 1147±214 пг/мл). У кроликов, устойчивых к стрессу, не отмечали достоверных изменений содержания НА в крови в этот период эксперимента (контроль — 664±155 пг/мл, 10 мин эксперимента — 915±237 пг/мл; 30 мин — 796±126 пг/мл). К 1 ч эксперимента АД у всех исследованных животных снижалось синхронно с уменьшением деятельности верхнего шейного и звездчатого ганглиев, о чем свидетельствовало снижение на 30-й минуте эксперимента активности в этих ганглиях ТГ, уменьшение содержания НА и ДА (табл. 1, 2). При продолжающемся действии раздражителя через 1 ч эксперимента активность ТГ — фермента синтеза катехоламинов в верхнем шейном и звездчатом ганглиях повышалась по сравнению с 30 мин эксперимента примерно на 100%, что в свою очередь, вызывало повышение содержания НА у кроликов обеих групп. На активный синтез НА в этот период указывало также повышенное содержание в ганглиях ДОФА и ДА (табл. 1). К концу эксперимента у устойчивых к стрессу кроликов, с незначительными колебаниями АД в процессе эксперимента, наступала стабилизация процессов

синтеза и распада катехоламинов на новом, соответствующем условиям стресса уровне, проявляющаяся в отсутствие изменений активности ТГ в звездчатом ганглии и в снижении ее активности в верхнем шейном ганглии, повышении активности МАО в верхнем шейном и звездчатом ганглиях (табл. 2, 3), отсутствии изменений содержания НА, А, ДОФА, ДОФУК в исследуемых ганглиях, снижении содержания ДА в верхнем шейном ганглии (табл. 1). У предрасположенных к стрессу животных к концу эксперимента повышение активности симпатической нервной системы (значительное увеличение содержания А, НА, ДОФА в крови) сопровождалось функциональным перенапряжением нейронов верхнего шейного и зведчатого ганглиев, повышением содержания суммарной клеточной РНК в нейронах, повышением содержания водорастворимых белков, снижением объемов ядер и цитоплазмы нейронов, снижением сухой массы цитоплазмы и ядер нейронов, снижением активности ТГ в верхнем шейном и звездчатом ганглиях (табл. 2). При этом в гомогенатах звездчатого ганглия зафиксировано повышение содержания НА и СТ, в верхнем шейном ганглии — СТ при сниженной активности МАО (табл. 1, 3). В симпатических ганглиях идентифицированы СТ-содержащие малые интенсивно флюоресцирующие клетки и получены доказательства возможной блокады СТ дальнейшего высвобождения ацетилхолина из нервных окончаний преганглионарных нейронов [42]. Сниженная преганглионарная информация могла приводить к модификации ТГ, проявлявшейся в наших экспериментах, вероятно, в снижении ее активности. Содержание НА в крови кроликов этой группы было значительно повышено в конце эксперимента (опыт — 2457±362 пг/мл; контроль — 425±95 пг/мл). Избыточный уровень НА, с одной стороны, мог оказывать повреждающее действие на миокард [43, 44]; на его ультраструктурную организацию, на содержание аденозинтрифосфата и креатинфосфата в кардиомиоцитах, нарушая тем самым энергетическое обеспечение функций сердца. С другой стороны, НА, возможно, регулирует собственное высвобождение (по принципу обратной связи), действуя на -адренорецепторы, при этом существенно нарушая синаптическую передачу, приводя к функциональной десимпатизации. В пользу этого предположения свидетельствуют данные [45], показавшие значительное снижение содержания НА в сердечной мышце при эмоциональном стрессе. Значительное повышение концентрации А в крови у животных с прогрессивно снижающимся АД в процессе эксперимента (опыт — 33044±5955 пг/мл; контроль — 2244±524 пг/мл), как следствие активации мозгового слоя надпочечников, также указывало на функциональную десимпатизацию и, вероятно, служило компенсаторной реакцией [46]. Необходимо отметить, что в условиях функциональной десимпатизации резко возрастает значение А как "аварийного гормона". Поскольку А оказывает более сильное влияние на аденилатциклазную систему, чем НА, вызываемая А активация метаболизма и его сдвиг в сторону

Таблица 1

Содержание биогенных аминов и некоторых продуктов их обмена в ганглиях вегетативной нервной системы кроликов в условиях эмоционального стресса (пг/мг сырого веса ткани, M±S.E.M.)

Группы	НА	ДОФА	А	ДА	ДОФУК	СТ
Верхний шейный ганглий						
Контроль (n=11)	4643±393	627±160	162±53	820±83	5863±1151	53±6
30 мин стресса (n=6)	3126±609*	867±335	91±28	456±92*	5478±330	
60 мин стресса (n=8)	9652±1380*	1642±377*	157±35	2184±174*	7123±1913	
120–180 мин стресса						
• устойчивые (n=6)	4904±1382	1129±571	119±20	457±86*	8390±4603	53±16
• предрасположенные (n=7)	5507±1149	1234±373	204±31	674±179	8234±2467	119±32*
Звездчатый ганглий						
Контроль (n=13)	4054±296	612±157	300±49	807±93	5464±802	42±14
30 мин стресса (n=5)	2419±532*	670±244	204±117	425±102*	3118±1230	
60 мин стресса (n=8)	8069±981*	1648±277*	277±100	2214±346*	5889±1000	
120–180 мин стресса						
• устойчивые (n=7)	3981±1322	782±365	216±45	514±117	8199±4690	55±18
• предрасположенные (n=7)	7041±1340*	919±272	280±96	708±261	5826±1650	103±25*
Узловатый ганглий						
Контроль (n=12)	781±117	198±55	523±310	162±31	828±201	
30 мин стресса (n=6)						
• устойчивые	113±39*	44±5*	212±26	59±15*	163±111*	
• предрасположенные	2046±162*	696±200	260±38	371±187	2166±187*	
60 мин стресса (n=8)						
• устойчивые	244±156*	148±81	485±238	92±48	202±139*	
• предрасположенные	1652±221*	284±45	160±43	519±63*	900±178	
120–180 мин стресса (n=7)						
• устойчивые	747±214	194±34	455±213	153±34	1232±676	
• предрасположенные	1728±356*	303±85	723±332	270±70	1535±995	

Примечание. Звездочкой обозначены величины, достоверно отличающиеся от контроля ($p<0,05$); n — количество животных, взятых в эксперимент

Таблица 2

Активность тирозингидроксилазы в узлах вегетативной нервной системы (пмоль ДОФА на 1 мг белка за 1 мин; M±S.E.M.)

Ганглий	Контроль (n=27)	30 мин эксперимента (n=6)	60—90 мин эксперимента (n=6)	Предрасположенные к развитию стресса (n=7)	Устойчивые к развитию стресса (n=4)
Верхний шейный	178±9	122±12*	217±18	91±12*	124±16*
Узловатый	93±7	115±52	204±33*	26±8*	100±15
Звездчатый	177±15	111±20*	245±20	61±15*	196±49
Примечание * — достоверное различие по сравнению с контролем (p<0,05); n — количество животных в группе					

Таблица 3

Активность моноаминоксидазы в нейронах ганглиев вегетативной нервной системы (условные единицы, M±S.E.M.)

Ганглий	Контроль (n=9; N — 360)	Предрасположенные (n=4; N — 160)	Устойчивые (n=5; N — 200)
Верхний шейный	0,72±0,005	0,70±0,006*	0,77±0,0056*
Звездчатый	0,84±0,006	0,80±0,0087*	0,88±0,006*
Узловатый	0,31±0,003	0,32±0,003	0,31±0,0044
Примечание. * — достоверное различие по сравнению с контролем (p<0,05); n — количество животных в группе; N — число нейронов			

энергетически менее выгодных реакций приводят к нарушению компенсаторной реакции и могут привести к тяжелой аритмии и инфаркту миокарда [47].

Биогенные амины в узловатом ганглии при эмоциональном стрессе

В саморегуляции АД важная роль принадлежит барорецепторам сердечно-сосудистой системы, клеточные тела которых локализованы, как известно, в узловатом ганглии. В ходе наших экспериментов выявлена значительная вариабильность содержания катехоламинов в узловатом ганглии кроликов, благодаря чему оказалось возможным разделить животных по характеру изменений содержания катехоламинов на 2 группы. Проведя анализ изменений содержания катехоламинов и продуктов их обмена в гомогенатах узловатого ганглия с учетом активности ТГ и МАО (табл. 1, 2, 3) в этом ганглии кроликов разных групп, мы считали возможным предположить, что у устойчивых к стрессу кроликов снижалось содержание НА в начале эксперимента, достоверно не отличалось от контроля к концу его, в то время как у предрасположенных к стрессу животных содержание НА, ДА, ДОФУК повышалось в процессе эксперимента и к концу его содержание НА оставалось повышенным. Различное содержание катехоламинов в узловатом ганглии могло свидетельствовать о неодинаковой его функциональной активности. Имеются сведения о влиянии НА на трофику клетки и через трофику на ее функциональное состояние. Поскольку полученные цитохимические данные (увеличение содержания РНК в нейронах, изменение содержания белка) указывали на повышенную функциональную активность узловатого ганглия в конце эксперимента предрасположенных к стрессу животных, мы склонны полагать, что повышенное содержание ДА, ДОФУК, НА свидетельствовало о повышенной активности ганглия. Следовательно, можно думать, что сниженное содержание НА соответствовало сниженной активности ганглия, тем более, что, по данным литературы [48], у животных, выживших при раздражении отрицательных эмоциогенных центров, зафиксировано подавление барорецепторного рефлекса. В таком случае становится понятным, почему у всех подопытных кроликов в первые 30 мин эксперимента АД повышалось, а увеличенное содержание НА в крови отмечали только у предрасположенных к стрессу животных, Сниженная активность нейронов узловатого ганглия блуждающего нерва устойчивых к стрессу животных, возможно, вызывала сниженную афферентацию от волокон блуждающего нерва к гипоталамусу, изменявшую, вероятно, баланс между обоими отделами автономной нервной системы в сторону преобладания симпатического тонуса, приводившего в свою очередь к повышению АД [49]. Следовательно, можно предполагать участие катехоламинов узловатого ганглия блуждающего нерва в изменении его реактивности и тем самым в регуляции барорецепторного рефлекса в условиях острого экспериментального эмоционального стресса.

Биогенные амины структур мозга крыс линий Август и Вистар, предварительно тестированных в открытом поле, в условиях иммобилизационных стрессов разной продолжительности

Функции симпатической нервной системы, как и эффекты блуждающего нерва, находятся под контролем активности центральной нервной системы.

Исследовали содержание биогенных аминов в основных моноаминсодержащих структурах мозга, ответственных за регуляцию симпатико-адреналовой, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (основных нейроэндокринных звеньев стресса), у крыс линий Август и Вистар с учетом их индивидуальных особенностей в условиях эмоциональных стрессов разной продолжительности. Известно, что крысы линии Вистар и Август представляют собой естественную модель разной устойчивости сердечно-сосудистых функций к эмоциональному стрессу. Причем в условиях эмоционального стресса у крыс линии Август, реакции симпато-адреналовой и адрено-кортикальной систем выражены сильнее и выделяющиеся при этом в кровь гормоны, совместно с нервными влияниями приводят к выраженным прессорным эффектам [1, 4, 50, 51, 52]. В условиях острой стрессовой стимуляции и повторно острой стрессовой стимуляции отмечены существенные генетические различия по уровню артериального давления, наибольшая величина которого обнаружена у крыс линии Август, наименьшая у Вистар [1, 2, 4, 51]. Известна важная роль норадренергической системы в процессах формирования функциональной ак-

тивности структур. В то же время известно, что активность НА-системы определяется в том числе взаимодействием с другими системами — СТ-, ДА- и А-ергической [52]. Показано [53, 54, 55, 56, 57], что, как правило, устойчивые животные обладают большим содержанием НА в отдельных участках мозга и меньшим содержанием СТ. В связи с этим интерес для исследования представляет синее пятно мозга — основное норадренергическое ядро, находящееся под модулирующим влиянием серотонинергических структур мозга. В наших экспериментах выявлено большее (на 26%) содержание НА в синем пятне мозга крыс Вистар, содержавшихся в условиях вивария; у крыс Август большее (121%) содержания СТ в этой структуре. Обнаружено большее содержание СТ в ретикулярной формации среднего мозга интактных крыс линии Август и меньшее содержание ДОФУК (при значительной тенденции к увеличению содержания ДА) (табл. 4, 5).

Зависимость уровня биогенных аминов от индивидуальных особенностей животных в разных областях мозга обусловлена, по всей вероятности, как различной активностью ферментов их синтеза, так и ферментов их распада, находящейся, в свою очередь, под генетическим контролем.

В то же время установлено, что индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу коррелирует с количественными показателями ориентировочно-исследовательского поведения [58]. Животные Вистар с большей двигательной активностью в открытом поле проявляли большую устойчивость к эмоциональному стрессу по сравнению с особями, обладающими меньшей двигательной активностью. Имеются сведения, указывающие на связь высокой двигательной активности крыс Август в открытом поле с их предрасположенностью к эмоциональному стрессу [59]. Вместе с тем обнаружено участие НА- и ДА-систем в становлении локомоторной активности. Это вполне согласуется с данными, полученными в условиях наших экспериментов. У животных Вистар с меньшей двигательной активностью в открытом поле содержание НА и ДА в синем пятне было ниже по сравнению с животными, обладающими большей двигательной активностью. У крыс Август с меньшей двигательной активностью установлено более низкое по сравнению с животными, имеющими высокую двигательную активность, содержание ДА (табл. 4). Содержание НА в обеих группах Август было выше уровня интактного контроля. Относительно участия СТ в двигательной активности единого мнения нет.

Однако существуют данные, указывающие на угнетение СТ двигательной активности [60, 61]. В наших экспериментах у крыс Вистар связи обмена СТ с двигательной активностью в открытом поле выявить не удалось, в то время как у крыс Август с меньшей двигательной активностью в синем пятне мозга выявлено более низкое, по сравнению с животными, имеющими высокую двигательную активность, содержание СТ и 5-ОИУК. У крыс Август с высоким уровнем двигательной активности в открытом поле показано снижение содержания А и повышение уровня 5-ОИУК в РФ среднего мозга по сравнению с животными с низким уровнем двигательной активности (табл. 5). У крыс Вистар не выявлено достоверных отличий содержания биогенных аминов в РФ среднего мозга между группами с разной двигательной

Таблица 4

Биогенные амины и некоторые продукты их обмена в синем пятне мозга в условиях эмоционального стресса (пг/мг сырого веса ткани, M±S.E.M.)

	НА	А	ДА	ДОФУК	5-ОИУК	СТ
38 ч ИМО с перерывами (Вистар), n=7						
Контроль 1	2075±521	335±120	377±96	331±76	240±59	105±34
Опыт 1	5094±862*	387±141	154±27	236±92	286±85	113±33
Контроль 2	8529±780**	479±120	665±45**	163±99	260±200	213±96
Опыт 2	12854±3048	607±158	388±85*	95±30	513±216	467±203
38 ч ИМО с перерывами (Август), n=7						
Контроль 1	7499±1433	484±61	148±38	197±51	624±97	367±103
Опыт 1	11910±2268	1126±254*	443±130*	409±80*	754±304	371±152
Контроль 2	9804±1828	644±130	355±40**	270±45	1293±328**	727±141**
Опыт 2	6124±1547	1002±228	243±29*	1460±933	540±100*	216±44*
48 ч ИМО с перерывами (Вистар), n=7						
Опыт	2730±1071		105±39***	90±22***	81±39***	85±25***
48 ч ИМО с перерывами (Август), n=7						
Опыт	5305±1056***		202±60	353±62***	202±58	113±46
24 ч ИМО (Вистар)						
Опыт	2313±807		365±199	478±92***	214±45	191±43
24 ч ИМО (Август)						
Опыт	2668±805		267±86	402±26***	87±10***	134±25
Контроль интактный (Вистар), n=21						
	3624±254		290±45	209±30	252±47	189±36
Контроль интактный (Август), n=21						
	2970±370		306±59	274±49	213±36	219±36

Примечание. * — достоверные различия между контролем 1 и опытом 1; контролем 2 и опытом 2; ** — достоверные различия между контролем 1 и контролем 2 ($p<0,05$); *** — между опытом и интактным контролем ($p<0,05$); контроль 1 — животные с низким, контроль 2 — с высоким уровнем двигательной активности в открытом поле; n — число животных, взятых в эксперимент (в каждой экспериментальной группе было по 7 животных; в контрольных группах — по 21)

Таблица 5

Биогенные амины и продукты их обмена в ретикулярной формации среднего мозга крыс в условиях эмоционального стресса (пг/мг сырой массы ткани, M±S.E.M.)

Группы животных	НА	А	ДА	ДОФУК	5-ОИУК	СТ
38 ч ИМО с перерывами (Вистар), n=7						
Контроль 1	1476±380	142±32	123±44	32±3*	314±79	138±36
Опыт 1	1416±244	181±51	376±195	64±7*	350±122	113±21
Контроль 2	1655±146	137±27	48±16	37±12	355±176	97±17
Опыт 2	1762±181	187±38	193±33*	140±100	284±60	100±25
38 ч ИМО с перерывами (Август), n=7						
Контроль 1	2075±630	216±41	93±45	32±10	360±72	205±32
Опыт 1	1675±205	362±58*	21±2*	47±4	560±51*	258±24
Контроль 2	1675±223	95±30**	86±15	49±12	637±74**	274±50
Опыт 2	1495±330	309±53*	24±5*	54±12	418±94	167±42*
48 ч ИМО с перерывами (Вистар), n=7						
Опыт	1847±956		57±13***	45±6***	82±37	135±60
48 ч ИМО с перерывами (Август), n=7						
Опыт	1439±388		56±15***	69±12	103±42	151±95
24 ч ИМО (Вистар), n=7						
Опыт	1733±476		119±34	212±77	141±31	131±42
24 ч ИМО (Август), n=7						
Опыт	1171±527		90±32	244±62**	127±64	132±51
Контроль интактный (Вистар), n=21						
	2174±483		134±26	116±20	167±30	108±21
Контроль интактный (Август), n=21						
	1500±193		162±35	72±16	198±42	190±26

активностью. Обнаружено достоверно более высокое содержание СТ в РФ среднего мозга у крыс линии Август с высокой двигательной активностью в открытом поле по сравнению с аналогичной группой крыс Вистар, в то время как содержание биогенных аминов у крыс линий Август и Вистар с меньшей двигательной активностью в открытом поле достоверно не отличалось.

Действие повторного эмоционального стресса (48 ч и 38 ч с перерывами) приводило к повышению обмена НА и ДА в синем пятне мозга крыс Вистар и Август со сниженной двигательной активностью в открытом поле; снижению содержания ДА и СТ в синем пятне животных с высокой двигательной активностью в открытом поле. Одноразовый, продолжительный эмоциональный стресс был связан с увеличенным обменом ДА у крыс Вистар и увеличенным обменом ДА и сниженным обменом СТ у крыс Август (табл. 4).

Таким образом, установлены отличия реакции синего пятна на сильный эмоциональный стресс у животных Август и Вистар, обладающих исходно неодинаковыми поведенческими характеристиками, т.е. разной устойчивостью к стрессу. У крыс с пониженной двигательной активностью в открытом поле выявлена активация НА- и ДА-систем в синем пятне в условиях стресса, в то время как у животных с высоким уровнем двигательной активности обнаружено снижение содержания ДА и СТ (по литературным данным [62] — стресс-лимитирующих) в нем.

На основании представленных данных можно думать, что устойчивость крыс Вистар с повышенной двигательной активностью в открытом поле к эмоциональному стрессу связана с исходно увеличенным содержанием НА и ДА в синем пятне мозга; в свою очередь, у крыс Август с большей двигательной активностью в открытом поле (предрасположенных к стрессу) установлено повышение содержания НА, ДА, СТ, 5-ОИУК в синем пятне мозга; сниженное содержание А и увеличенное содержание 5-ОИУК в ретикулярной формации среднего мозга.

Известно, что между синим пятном и ядрами шва [63], синим пятном и вентральной тегментальной областью [64] существует тесная анатомическая связь. Показана анатомическая связь также и между вентральной областью покрышки и ядрами шва [65]. В связи с этим представлялось важным изучить содержание биогенных аминов, дающих возможность оценить функциональную активность структур, в вентральной области покрышки и дорзальном ядре шва. Оказалось, что у крыс Вистар в условиях 48 ч стресса с перерывами повышалось содержание ДОФА в вентральной области покрышки (контроль — 199±47 пг/мг; опыт — 447±112 пг/мг*), указывающее на активацию этой структуры, в то время как у крыс Август — было увеличено содержание 5-ОИУК (контроль — 46±14 пг/мг; опыт — 182±56 пг/мг*), по всей вероятности, свидетельствующее о тормозном действии серотонинергических нейронов ядер шва на дофаминергические нейроны вентральной области покрышки. 24-часовой иммобилизационный стресс приводил к снижению содержания ДА (контроль — 2827±1214 пг/мг; опыт — 1130±291 пг/мг*), СТ (контроль — 442±135 пг/мг; опыт — 149±59 пг/мг*), 5-ОИУК (контроль — 339±70 пг/мг; опыт — 169±31 пг/мг*) в вентральной области покрышки у крыс Вистар, в то время как у крыс Август в этой структуре снижалось содержание ДА (контроль — 2236±1018 пг/мг, опыт — 444±124 пг/мг*), 5-ОИУК — (контроль — 758±205 пг/мг; опыт — 284±95 пг/мг*). В дорзальном ядре шва у крыс линии Август выявлено снижение содержания ДА (контроль — 483±71 пг/мг; опыт —

270±52 пг/мг*); СТ (контроль — 602±114 пг/мг; опыт — 236±64 пг/мг*), 5-ОИУК (контроль — 673±191 п/мг; опыт — 126±26 пг/мг*) в условиях 24 ч ИМО, в то время как у крыс Вистар в этой структуре установлено снижение содержания ДА (контроль — 455±150 пг/мг; опыт — 189±55 пг/мг*). В условиях 48 ч ИМО обнаружено повышение содержания ДОФУК (контроль — 56±19 п/мг; опыт — 176±71 пг/мг*) в дорзальном ядре шва у крыс Август.

Итак, была обнаружена зависимость изменений обмена биогенных аминов в дорзальном ядре шва и вентральной области покрышки от генотипа животных и продолжительности стресса. Возможно, что серотонинергические нейроны дорзального ядра шва и дофаминергические нейроны вентральной области покрышки оказывают модулирующее влияние на активность синего пятна, имеющего гомеостатические функции. Полученные результаты дают возможность полагать, что в условиях 38 ч и 48 ч ИМО с перерывами мощность СТ- и ДА-иннервации у животных с исходно высокой локомоторной активностью падает, либо вследствие истощения синтезирующих систем, либо вследствие блокады СТ- и ДА-рецепторов, вследствие увеличения активности МАО-фермента деградации моноаминов [66], что, в свою очередь, по всей вероятности, вызывает стабилизацию активности норадренерических нейронов синего пятна на необходимом для стресса уровне.

Существуют прямые связи нейронов синего пятна с нейронами гипоталамуса, ответственными за активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатоадреналовой систем. Информация поступает к гипоталамусу в составе медиального пучка переднего мозга. В плане осуществления стресс-реакции важным является гипоталамо-гипофизарный путь, подходящий к ножке гипофиза и соединяющий крупноклеточную супраоптическую и паравентрикулярную нейросекреторную систему с гипофизом. Обнаружена их причастность к нейроэндокринным процессам, в частности, к регуляции секреции кортикотропин-рилизинг гормона и адренокортикотропного гормона (АКТГ). Известно, что высвобождение АКТГ контролируется главным образом кортикотропин-рилизинг фактором, который синтезируется нейронами паравентрикулярного ядра и затем по аксонам поступает в срединное возвышение. Паравентрикулярное ядро, участвуя в регуляции стрессорной активности гипоталамо-гипофизарно-адрено-кортикальной и симпатоадреналовой систем, определяет таким образом силу стимула, при котором наступает адаптация. Показано [10, 67, 68, 69, 70], что норадренергическая иннервация паравентрикулярного ядра играет важную роль в секреции кортикотропин-рилизинг фактора. Однако, единого мнения относительно природы этого взаимоотношения до сих пор не существует. Одни авторы считают, что высвобождение НА в гипоталамусе уменьшает секрецию кортикотропин-рилизинг фактора, другие демонстрируют прямую корреляцию между уровнем НА и секрецией кортикотропин-рилизинг фактора. В то же время все больше данных [71, 72, 73, 74], свидетельствующих о том, что для действия того или иного медиатора не так важен абсолютный его уровень в мозгу, как баланс между различными биологически активными аминами. Так отмеченное понижение содержания ДА (табл. 6) в паравентрикулярном ядре гипоталамуса у крыс линии Вистар после 48 ч ИМО с перерывами могло модулировать активность НА системы и тем самым оказывать воздействие на секрецию кортикотропин-рилизинг фактора [75, 76]. Повышение содержания А после 24 ч ИМО и повышение 5-ОИУК в паравентрикулярном ядре гипоталамуса у крыс линии Август после 48 ч ИМО также влияло на высвобождение кортикотропин-рилизинг фактора. Увеличение секреции адренокортикотропного гормона, вызываемого стресс-реакцией, может быть следствием прямого действия катехоламинов на гипофиз [75]. Как известно [76], ДА стимулирует секрецию кортикотропин-рилизинг фактора в портальный кровоток. Установленное снижение содержания ДА в срединном возвышении у крыс линии Вистар, так же как повышение продукта распада ДА-ДОФУК у крыс линии Август, могло свидетельствовать о преобладании расхода ДА над его поступлением в эту область. По нервным связям к гипоталамусу поступают импульсы из самых различных отделов центральной нервной системы, в том числе лимбической и ретикулярной формации среднего мозга. По всей вероятности, изменения содержания моноаминов в этих структурах модулирует образование кортикотропин-рилизинг фактора в паравентрикулярном ядре гипоталамуса. В условиях 24 ч ИМО в базолатеральном отделе миндалины у крыс линии Вистар наблюдали снижение содержания НА (контроль — 1986±534 пг/мг; опыт — 746±129 пг/мг*) и СТ (контроль — 245±76 пг/мг; опыт — 115±37 пг/мг*). В медиальном ядре перегородки у крыс линии Август достоверно снижалось содержание ДА (контроль — 222±40 пг/мг; опыт — 128±97 пг/мг*). В синем пятне, основном норадреналинсинтезирующем ядре, при тенденции к повышению содержания НА у крыс линии Август снижалось содержание 5-ОИУК (контроль — 283±106 пг/мг; опыт — 87±10 пг/мг*).

Таблица 6

Биогенные амины и продукты их обмена в паравентрикулярном ядре гипоталамуса (пг/мг сырой ткани (M±S.E.M.)

НА	ДОФА	ДА	ДОФУК	5-ОИУК	СТ
48 ч ИМО с перерывами (Вистар), n=7					
4199±1401	152±28	79±14***	76±11***	54±15***	146±60
48 ч ИМО с перерывами (Август), n=7					
3610±1044	210±22***	162±61	172±34***	387±172	175±127
24 ч ИМО с перерывами (Вистар), n=7					
3544±845	314±81	259±55	494±98***	327±102	340±102
24 ч ИМО с перерывами (Август), n=7					
2434±407	333±151	282±74	561±121	223±54	242±95
Контроль интактный (Вистар), n=21					
3020±447	255±57	335±62	236±49	143±29	212±75
Контроль интактный (Август), n=21					
3336±784	123±25	288±82	489±122	163±68	178±67

В настоящее время доказано, что первопричиной возникновения нарушений в условиях эмоциональных стрессов является формирование "застойного" возбуждения внутри гипоталамо-лимбико-ретикулярного комплекса [1, 4], которое затем генерализовано распространяется в восходящем направлении на кору больших полушарий, а в нисходящем — через вегетативную нервную систему на различные внутренние органы, и в установление которого принимает участие гормон надпочечников — А. Считают, что А, проникая через гематоэнцефалический барьер и взаимодействуя с адренергическими рецепторами ретикулярной формации среднего мозга, оказывает на него вторичное активирующее влияние. В условиях наших опытов содержание катехоламинов в конце эксперимента в ретикулярной формации среднего мозга, было неодинаковым у крыс разных линий (табл. 5). Если у крыс линии Вистар, с более устойчивыми к эмоциональному стрессу сердечно-сосудистыми функциями, в условиях 38 ч стресса с перерывами повышалось содержание ДА в ретикулярной формации среднего мозга (у крыс с большей двигательной активностью — достоверно, у крыс с меньшей двигательной активностью наблюдалась лишь тенденция), то у крыс линии Август, с меньшей устойчивостью сердечно-сосудистых функций к эмоциональному стрессу, в ретикулярной формации среднего мозга при сниженном содержании ДА повышалось содержание А. В условиях 24 ч и 48 ч ИМО с перерывами у крыс Август отмечено снижение содержания ДА при тенденции к повышению содержания А в исследуемых структурах. В то же время имеются сведения о том, что адреналэктомия приводит к снижению уровня АД [1, 77].

В сенсомоторной коре (табл. 7) у крыс Вистар с меньшей двигательной активностью в открытом поле содержание НА повышалось, в то время как у крыс с большей двигательной активностью содержание ДА снижалось в условиях 38 ч острого повторного стресса. У крыс Август с меньшей двигательной активностью содержание А снижалось в условиях 38 ч иммобилизации. Обмен СТ в сенсомоторной коре повышался у крыс Август как с большей, так и с меньшей двигательной активностью.

Можно думать, что полученные нейрохимические характеристики являются показателем разного уровня формирования "застойного" возбуждения в условиях эмоционального стресса у животных, с неодинаковой устойчивостью сердечно-сосудистых функций к эмоциональному стрессу. Вероятно, у крыс Август возбуждение уже складывалось, в том числе и вследствие вторичного действия А на адренергические рецепторы ретикулярной формации среднего мозга, что, видимо, соответствовало более поздней стадии формирования "застойного" возбуждения.

Известно, что активация симпатического отдела нервной системы определяется в том числе взаимодействием его с парасимпатическим отделом, Как следует из литературных данных [78, 79], СТ может способствовать активации системы блуждающего нерва путем стимуляции чувствительных нервных окончаний. Можно думать, что в условиях наших экспериментов при повышенном расходе СТ в том числе в дорзальном ядре вагуса (5-ОИУК: контроль — 43±9 пг/мг; опыт — 101±18 пг/мг*) и в ядре одиночного пучка (5-ОИУК: контроль — 56±23 пг/мг; опыт — 149±42 пг/мг*) у крыс линии Август имела место существенная активация парасимпатического отдела нервной системы. Кроме того, в вентромедиальном ядре гипоталамуса, оказывающего непосредственное влияние на дорзальное ядро вагуса, выявлено снижение содержания ДА у крыс линии Август.

Таким образом, отмеченная ранее большая активация симпатоадреналовой и адренокортикальной систем [50, 80], сопровождающаяся выраженными прессорными эффектами у крыс линии Август [1, 80] в условиях эмоционального стресса определяется качественно разными изменениями активности нейромедиаторов в центральной нервной системе, зависящими, в свою очередь, от исходных поведенческих характеристик животных.

Биогенные амины в структурах мозга крыс разного зоосоциального ранга при иммобилизационном стрессе

Совместное пребывание животных в среде обитания и особенности их целенаправленного поведения при удовлетворении биологических потребностей определяют индивидуальные особенности каждой особи, ее иерархический статус. Существует много работ, свидетельствующих о том, что социальные и психологические характеристики индивида могут влиять на его физиологическую реакцию на эмоциональный стресс.

Таблица 7

Содержание биогенных аминов и продуктов их обмена в сенсомоторной коре крыс линий Август и Вистар (пг/мг сырой массы ткани, M±S.E.M.)

Группы животных	НА	А	ДА	ДОФУК	5-ОИУК	СТ
Вистар						
Контроль 1 (n=7)	497±80	116±35	110±61	38±6	169±36	41±5
Опыт 1 (n=7)	1642±184*	98±40	209±30	219±127	113±40	113±65
Контроль 2 (n=7)	1775±391	165±56	366±81**	59±8**	91±20	35±4
Опыт 2 (n=7)	2567±428	115±16	120±41*	86±45	216±97	117±56
Контроль интактный (n=7)	963±139	165±56	90±20	21±8	55±14	26±4
Август						
Контроль 1 (n=7)	1844±243	159±24	150±87	237±108	188±31	102±22
Опыт (n=7)	1425±168	107±8*	81±46	305±90	318±50*	126±30
Контроль 2 (n=7)	1630±219	160±41*	77±31	313±115	208±26	121±14
Опыт 2 (n=7)	3238±1718	401±185	23±5	288±91	385±38*	111±9
Контроль интактный (n=7)	1779±210	297±121	153±37	283±136	123±15	210±43
Примечание. * — достоверные различия между контролем 1 и опытом 1, контролем 2 и опытом 2; контроль 1 — животные с низким, контроль 2 — с высоким уровнем двигательной активности в открытом поле; опыт 1 — животные с низким, опыт 2 — с высоким уровнем двигательной активности после ИМО; n — число животных, взятых в эксперимент						

В наших исследованиях в основу иерархического ранга животных была положена результативность пищедобывательного поведения. В результате проведенных исследований (табл. 8) установлено, что содержание ДА в синем пятне и области сенсомоторной коры у доминирующих крыс достоверно выше в сравнении с теми же величинами у субдоминантов. Как видно из таблицы, более высокое содержание серотонина отмечено в ретикулярной формации среднего мозга и в синем пятне у крыс—субдоминантов в сравнении с доминирующими животными. После 38-часового стресса с перерывами наблюдали существенное повышение содержания СТ и продукта его распада в ретикулярной формации среднего мозга, сенсомоторной коре и синем пятне доминирующих животных, тогда как у крыс—субдоминантов значимые изменения, а именно повышение 5-ОИУК-продукта распада СТ, имели место только в сенсомоторной коре. По всей вероятности, по исследованным параметрам уровень стрессирования у субдоминантов был ниже, чем у доминантов. Возможно, это связано с тем, что формирование иерархических отношений в экспериментальных группах в первые дни происходит на фоне социального стресса как для доминантных, так и для подчиненных животных [81, 82, 83]. Вместе с тем известно, что чем больше растянуто во времени стрессогенное воздействие, тем лучше включаются механизмы адаптации [1]. В то же время существуют данные, указывающие на то, что устойчивая активация гипофизарно-надпочечниковой системы при длительном введении АКТГ оказывает ингибирующее влияние на агрессивное поведение и на склонность животных к доминированию, в то время как на ее функционирование, в свою очередь, оказывает регулирующее воздействие СТ-система [84].

Действие физических и химических факторов на моноамины мозга в условиях экспериментальных эмоциональных стрессов

Установлена связь уровня биогенных аминов в ряде структур мозга с устойчивостью сердечно-сосудистых реакций к эмоциональному стрессу. Возник вопрос, меняется ли обмен биогенных аминов в мозге при действии на организм различных физических и химических факторов, оказывающих действие на сердечно-сосудистые реакции.

Биогенные амины в ганглиях вегетативной нервной системы при эмоциональном стрессе: роль ангиотензина-II

Существуют данные об участии ангиотензина-II в формировании устойчивости сердечно-сосудистых функций к эмоциональному стрессу. Однако вопрос о механизмах его действия остается открытым. Установлено регулирующее действие ангиотензина-II на активность симпатической нервной системы путем повышения обмена катехоламинов в ядрах мозга, ответственных за симпатическую активность; облегчения адренергической передачи в симпатических ганглиях [85]; повышения высвобождения и синтеза НА в постганглионарных симпатических нервных окончаниях, а также вследствие его действия на чувствительность барорецепторов [86].

В условиях наших экспериментов — одновременного центрального действия ангиотензина-II и раздражения вентромедиальных ядер гипоталамуса и кожи туловища — в первые 40 мин эксперимента у животных отмечалось повышение АД на 32±2,1 мм рт.ст., сопровождаемое брадикардией, аритмией, экстрасистолией, фибрилляцией желудочков, в 86% случаев приводившее к летальному исходу, и это свидетельствовало об усилении сердечно-сосудистых реакций. При этом у предрасположенных к стрессу животных в конце эксперимента в верхнем шейном ганглии содержание НА было повышено на 70%, ДОФА — на 150% и ДОФУК — на 420% (рис. 1). Содержание СТ было снижено как в звездчатом, так и в верхнем шейном ганглиях. Повышенное содержание ДОФА указывало на активный синтез катехоламинов в условиях данного эксперимента. В конце эксперимента содержание НА в крови предрасположенных к стрессу животных было увеличено на 500% в сравнении с исходной величиной (рис. 2).

Таблица 8

Содержание биогенных аминов и их метаболитов в отделах мозга крыс, различающихся по иерархическому положению (пг/мг сырого веса ткани, M±S.E.M.)

Группы	НА	А	ДОФА	ДА	ДОФУК	5-ОИУК	СТ
Синее пятно							
Доминант	621±664	447±96	663±106	226±15*	177±63	110±29**	102±20**,*
Д ИМО	6376±1229	438±65	740±88	181±61	306±79	263±57	272±47
Субдоминант	5978±1041	441±136	520±90	123±24	305±100	174±50	222±70
С ИМО	5685±983	275±40	703±106	143±26	365±51	268±70	225±66
Ретикулярная формация среднего мозга							
Доминант	1733±265	183±33	162±29	72±20	63±12	25±5**,*	41±6**,*
Д ИМО	1818±268	107±16	191±29	37±6	126±50	272±35	232±27
Субдоминант	1983±401	197±56	126±19	61±22	65±18	113±21	119±33
С ИМО	1369±270	138±19	124±30	45±15	66±14	230±53	148±36
Сенсомоторная кора							
Доминант	781±49	175±21	100±27	180±34*	29±5	52±19**	53±14**
Д ИМО	1041±224	192±54	158±36	135±48	82±61	196±48	185±51
Субдоминант	697±70	152±30	81±17	71±28	53±28	76±17**	87±34
С ИМО	793±53	164±34	109±26	672±390	46±16	152±18	101±12

Примечание. * — достоверное различие группы доминантов в сравнение с группой субдоминантов, ** — достоверные различия группы доминантов в сравнение с группой субдоминантов после ИМО; Д — доминант; С — субдоминант; в каждой экспериментальной группе было 8—9 животных

В узловатом ганглии блуждающего нерва у предрасположенных к эмоциональному стрессу кроликов на фоне действия ангиотензина-II в конце эксперимента было зафиксировано повышение содержания НА на 170%, ДОФА — на 190%, ДОФУК — на 310% (рис. 1).

При сравнении реакции кроликов, предрасположенных к эмоциональному стрессу, на стрессогенный фактор при одновременном воздействии ангиотензина-II или без такого воздействия было отмечено, что эта реакция характеризуется повышенной метаболической активностью симпатических — верхнего шейного и звездчатого — ганглиев, а также узловатого ганглия блуждающего нерва в обеих группах животных. При этом у предрасположенных к стрессу животных к концу эксперимента повышалось содержание СТ в симпатических ганглиях, а в группе животных, также предрасположенных к стрессу, но исследованных на фоне центрального действия ангиотензина-II оно было ниже уровня контроля. Возможно, при обмене СТ реализуется облегчающее действие ангиотензина-II на передачу возбуждения в симпатических ганглиях.

Есть основания предполагать, что в условиях острого эмоционального стресса ангиотензин-II оказывает модулирующее воздействие на обмен катехоламинов, а вследствие этого и на устойчивость сердечно-сосудистых реакций.

Биогенные амины в центральной нервной системе крыс линий Август и Вистар: действие нейротропина

Установлено, что нейротропин (стресс-протектор) — небелковый, стандартизированный экстракт из ткани кожи кроликов, инокулированной вирусом коровьей оспы, содержащий много конъюгированных полисахаридов [87, 88], — оказывает стабилизирующее влияние на измененные показатели гомеостаза путем воздействия на активность автономной нервной системы через нейроны центральной нервной системы.

Однократное введение нейротропина перед первой фиксацией крыс Вистар приводило к снижению содержания СТ в дорзальном ядре вагуса, ретикулярной формации среднего мозга, паравентрикулярном ядре; при этом содержание СТ в синем пятне снижалось в еще большей степени, что, вероятно, влияло на функциональную активность его НА нейронов (рис. 3). В паравентрикулярном ядре гипоталамуса содержание НА повышалось (рис. 3). Изменение содержания биогенных аминов у крыс Август, наблюдаемое после 5-кратного введения нейротропина, сопоставимо с данными, полученными в условиях повторного эмоционального стресса, в то время как однократное введение нейротропина в дозе 100 нг вызывало существенно отличавшиеся изменения. Так, в синем пятне мозга снижалось содержание НА, ДОФА, 5-ОИУК, СТ; в ретикулярной формации среднего мозга, перивентрикулярном ядре гипоталамуса снижалось содержание ДА. В ретикулярной формации среднего мозга, перивентрикулярном ядре гипоталамуса, дорзальном ядре шва, дорзальном ядре вагуса, синем пятне снижалось содержание 5-ОИУК (рис. 4). Также обнаружено, что ИМО на фоне действия нейротропина (5-кратного или однократного) у крыс Август повышала (достоверно или же имелась выраженная тенденция) содержание НА в ядрах гипоталамуса — аркуатном, паравентрикулярном, вентральной области покрышки, дорзальном ядре вагуса, ядре одиночного пучка, дорзальном ядре шва.

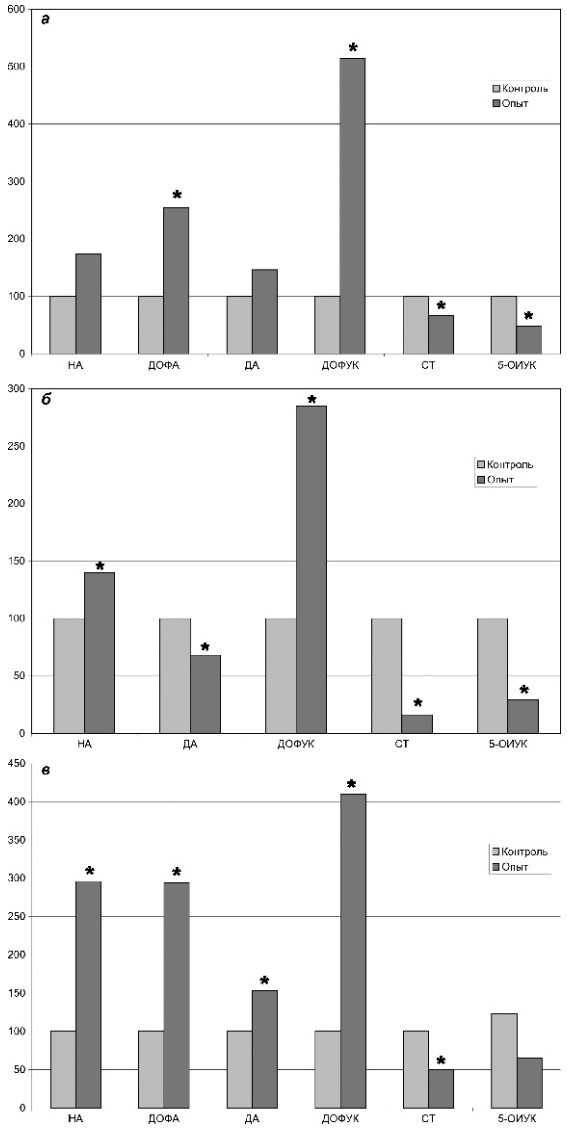


Рис. 1. Содержание биогенных аминов и продуктов их обмена в ганглиях вегетативной нервной системы в условиях эмоционального стресса: действие ангиотензина-II: а) — верхний шейный ганглий; б) — звездчатый ганглий; в) — узловатый ганглий; * — величины, достоверно отличающиеся от контроля (в процентах по отношению к контролю); в каждой группе было от 5 до 6 животных

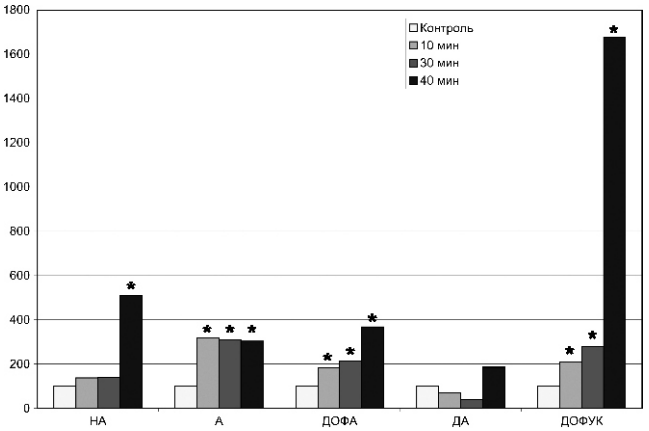


Рис. 2. Концентрация катехоламинов и продуктов их обмена в крови в условиях эмоционального стресса: действие ангиотензина-II: * — величины, достоверно отличающиеся от контроля (в процентах по отношению к контролю); контроль до начала раздражения вентромедиальных ядер, в каждой группе было от 5 до 6 животных

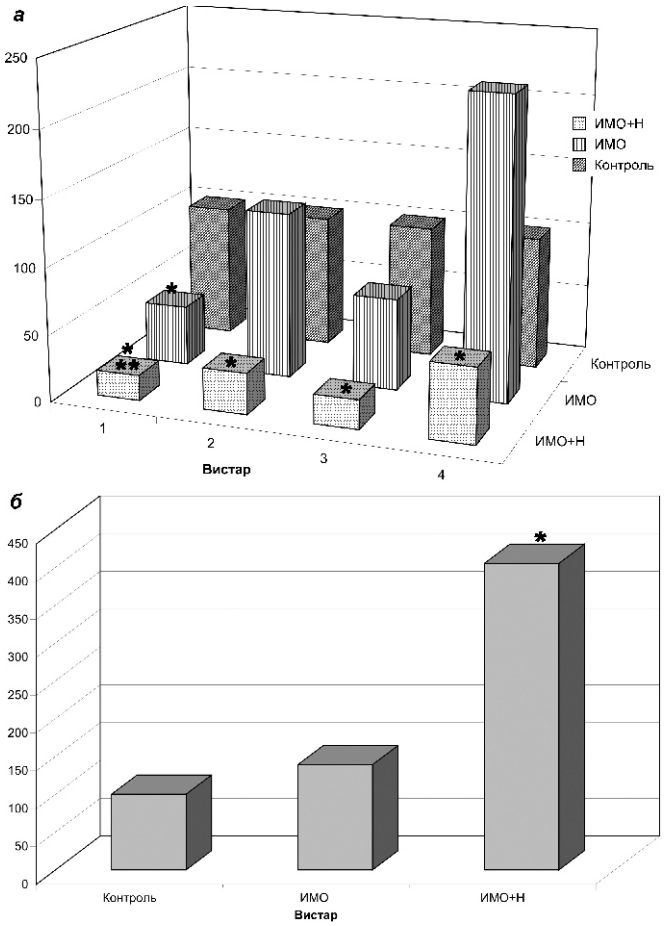


Рис. 3. Содержание биогенных аминов и их метаболитов в отделах мозга крыс: действие нейротропина (Н) (Вистар): а) — серотонин: 1 — синее пятно мозга; 2 — ретикулярная формация среднего мозга; 3 — паравентрикуярное ядро; 4 — дорзальное ядро вагуса; б) — норадреналин: паравентрикулярное ядро гипоталамуса; * — достоверные различия по сравнению с интактным контролем; ** — достоверные различия по сравнению с группой животных, находившихся в условиях ИМО. В каждой экспериментальной группе было по 7 животных, в контрольных интактных группах областей синего пятна, ретикулярной формации среднего мозга, паравентрикулярного ядра было по 21 крысе; значения приведены в процентах по отношению к контролю

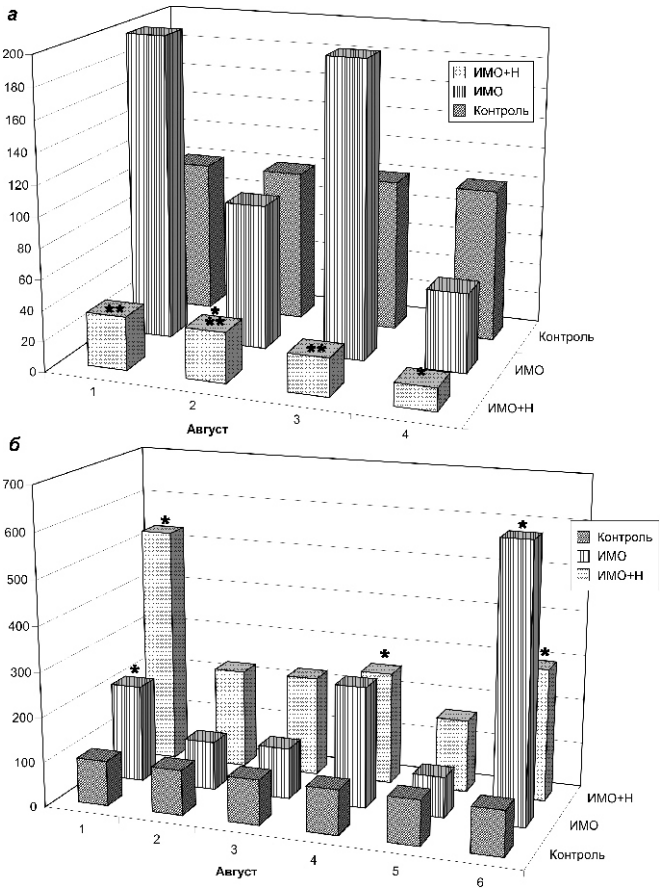


Рис. 4. Содержание биогенных аминов и их метаболитов в отделах мозга крыс: действие нейротропина (Н) (Август): а) — 5-ОИУК: 1 — перивентрикулярное ядро гипоталамуса; 2 — синее пятно; 3 — дорзальное ядро шва; 4 — ретикулярная формация среднего мозга; б) — НА: 1 — аркуатное ядро гипоталамуса; 2 — паравентрикулярное ядро гипоталамуса; 3 — синее пятно; 4 — вентральная область покрышки; 5 — ядро одиночного пучка; 6 — дорзальное ядро вагуса; * — достоверные различия по сравнению с интактным контролем; ** — достоверные различия по сравнению с группой животных, находившихся в условиях ИМО. В каждой экспериментальной группе было по 7 животных, в контрольных интактных группах областей: синего пятна, ретикулярной формации среднего мозга, паравентрикулярного ядра было по 21 крысе; значения даны в процентах по отношению к контролю

Таким образом, установлен эффект действия нейротропина на обмен биогенных аминов в ряде структур мозга у животных, находившихся в условиях ИМО. Показано, что нормализующее действие нейротропина зависит от его дозы и от генотипа животных. Антистрессорный эффект нейротропина, по всей вероятности, проявляется вследствие нормализации соотношения активностей НА-системы мозга и СТ- и ДА-ергических в ряде структур мозга.

Биогенные амины в условиях эмоционального стресса: действие пептида, вызывающего дельта-сон

Имеются сведения об антистрессорном действии ПВДС [89, 90, 91]. Можно предположить, что антистрессорный эффект ПВДС проявляется в том числе и через обмен биогенных аминов, прежде всего в основной НА-синтезирующей структуре — синем пятне.

В результате проведенных исследований в условиях 1 ч ИМО с электрокожным раздражением хвоста установлено повышение содержания ДОФУК в синем пятне на 429%. На фоне введения ПВДС в условиях эмоционального стресса не отмечалось значимых изменений содержания исследуемых биогенных аминов и продуктов их обмена в синем пятне (рис. 5).

Таким образом, можно предположить, что антистрессорное действие ПВДС проявляется в том числе и через нормализацию обмена биогенных аминов синего пятна.

Роль перегородки, базолатеральных отделов миндалины, ретикулярной формации среднего мозга в регуляции биогенных аминов в центральной нервной системе при эмоциональном стрессе

Установлено, что при функциональном выключении отдельных лимбико-ретикулярных структур мозга изменяется характер стрессорных реакций [1, 3, 92, 93]. Однако распределение биогенных аминов в различных областях мозга практически не изучено.

Как показали наши эксперименты, при функциональном выключении ретикулярной формации среднего мозга — своеобразного аккумулятора энергии афферентных им-

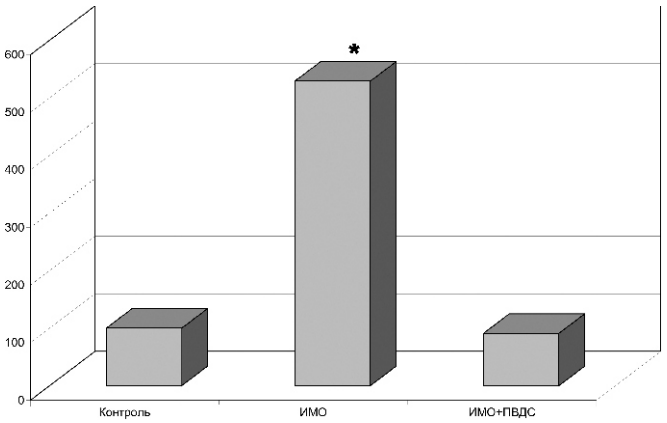


Рис. 5. Содержание ДОФУК в синем пятне мозга при эмоциональном стрессе: действие пептида дельта-сна; * — величины, достоверно отличающиеся от контроля (в процентах по отношению к контролю); в каждой группе было по 7 животных

пульсаций, — при эмоциональном стрессе и в условиях нарушенных восходящих и нисходящих связей в структурах, функционально связанных с ретикулярной формацией среднего мозга, содержащих биогенные амины, их уровень изменяется (рис. 6). Снижалось содержание А в медиальном ядре перегородки (на 67%), в базолатеральном отделе миндалины снижалось содержание А, ДА, СТ (соответственно на 81, 58, 67%); в медиальном ядре перегородки повышалось содержание НА (на 47%). В синем пятне снижалось содержание СТ (на 68%), наблюдалась тенденция к увеличению содержания НА. В вентральной области покрышки снижалось содержание А (69%) и ДА (89%).

В условиях коагуляции стресс-ингибирующей структуры — перегородки — при эмоциональном стрессе содержание ДА, СТ, А, снижается как в клеточных телах, синтезирующих эти амины, так и в областях, содержащих их окончания. Другими словами, при этом снижается активность стресс-лимитирующих систем мозга (ДА-, СТ-, А-).

В условиях выключения базолатеральных отделов миндалины — структуры, вовлеченной в формирование стрессорных ответов, — изменения содержания ДА и СТ в клеточных телах, продуцирующих эти амины, не отмечены; в некоторых изученных областях, включающих СТ- и ДА-окончания, их содержание снижалось. Содержание А в изученных структурах не изменялось, за исключением дорзального ядра шва и синего пятна, где наблюдалось понижение содержания А. В то же время необходимо обратить внимание на повышение в этих условиях содержания НА в ряде структур мозга: срединном возвышении гипофиза, синем пятне, вентральной области покрышки.

Выраженные изменения биогенных аминов в паравентрикулярном ядре гипоталамуса и в синем пятне, влияющих на преганглионарные нейроны вегетативной нервной системы, имели место при функциональном выключении медиального ядра перегородки и базолатеральных отделов миндалины.

Таким образом, при выключении ретикулярной формации среднего мозга, перегородки, базолатеральных отделов миндалины в условиях эмоционального стресса было отмечено изменение содержания биогенных аминов в структурах гипоталамуса и лимбического комплекса, ответственных за формирование "застойного" возбуждения.

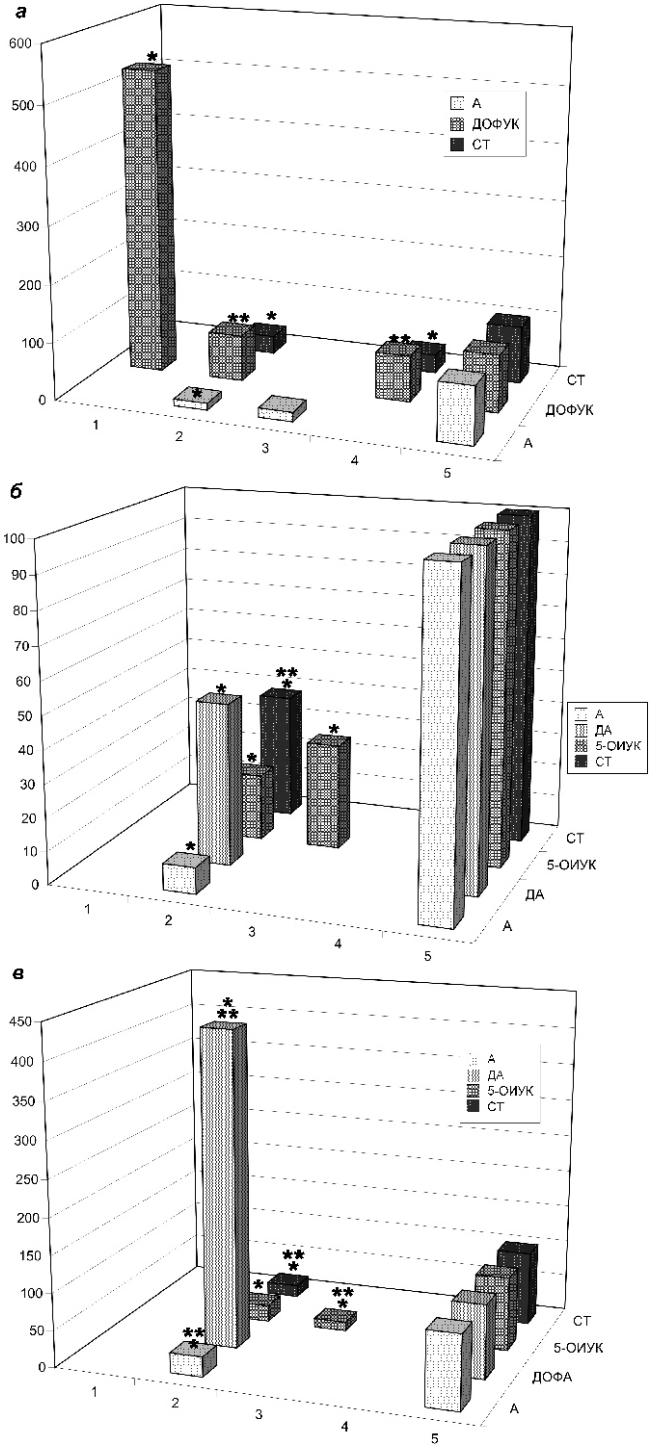


Рис. 6. Содержание биогенных аминов и их метаболитов в мозге крыс при эмоциональном стрессе и в условиях функционального выключения базолатеральных отделов миндалины, медиального ядра перегородки и ретикулярной формации среднего мозга: а) — синее пятно мозга; б) — паравентрикулярное ядро гипоталамуса; в) — ретикулярная формация среднего мозга; 1 — группа животных, находившихся в условиях иммобилизационного стресса; 2 — стресс на фоне 2-стороннего разрушения перегородки; 3 — стресс на фоне 2-стороннего разрушения миндалины; 4 — стресс на фоне 2-стороннего разрушения ретикулярной формации среднего мозга; 5 — интактный контроль; * — достоверные различия по сравнению с интактным контролем; ** — достоверные различия по сравнению с группой животных, находившихся в условиях ИМО. В каждой экспериментальной группе было по 7 животных, в контрольных интактных группах областей: синего пятна, ретикулярной формации среднего мозга, паравентрикулярного ядра было по 21 крысе; значения даны в процентах по отношению к контролю

Заключение

При изучении индивидуальных механизмов устойчивости сердечно-сосудистых реакций к эмоциональному стрессу установлена связь метаболической активности (по обмену биогенных аминов) симпатических ганглиев звездчатого и верхнего шейного с динамикой артериального давления в условиях острого экспериментального эмоционального стресса. Гиперактивность симпатической нервной системы — одно из звеньев в патогенезе сердечно-сосудистых нарушений при эмоциональном стрессе. Существует определяющая роль узловатого ганглия блуждающего нерва в формировании устойчивости сердечно-сосудистых реакций при эмоциональном стрессе.

Показано, что изменение метаболической активности ганглиев вегетативной нервной системы в условиях эмоционального стресса сопровождается повышением активности генетического аппарата их клеток, проявлявшейся в увеличении содержания суммарной РНК в нейронах как узловатого так и звездчатого ганглиев. При этом в узловатом ганглии блуждающего нерва изменения белков имеют катаболический характер. В звездчатом ганглии происходит усиление анаболических процессов. Верхний шейный ганглий по характеру метаболических изменений занимает промежуточное положение. Выявлено, что исходное содержание биогенных аминов в отделах центральной нервной системы, зависящее, в свою очередь, от поведенческих характеристик животных, определяет характер стрессорной реакции. Установлено, что устойчивость сердечно-сосудистых функций в условиях эмоционального стресса определяется уровнем обмена биогенных аминов в ганглиях вегетативной нервной системы, отделах продолговатого, среднего мозга, гипоталамуса, коры, обеспечивающих формирование деятельности узловых механизмов функциональной системы поддержания артериального давления. Выявлено, что зависимость уровня биогенных аминов от динамики артериального давления обусловлена в том числе и разной активностью ферментов их синтеза и распада — тирозингидроксилазы и моноаминоксидазы. Соотношение активностей стресс-реализующей системы норадреналина и стресс-лимитирующих систем ДА, СТ, А играет определяющую роль в формировании устойчивости сердечно-сосудистых реакций. Устойчивость связана с повышенной авктивностью НАергической системы, не приводящей к истощению нервных клеток; понижение содержания в определенных отделах мозга стресс-лимитирующих веществ — ДА, СТ, А — может повышать устойчивость сердечно-сосудистых реакций. Системы серотонина и адреналина в изученных структурах мозга играют важную роль в патогенезе возникновения сердечно-сосудистых нарушений при эмоциональных стрессах. Повышение обмена СТ и А в исследуемых структурах выявлено у крыс Август и у предрасположенных к стрессу крыс Вистар. При воздействии на обмен биогенных аминов химическими и физическими факторами (ангиотензин-II, нейротропин, пептид, вызывающий дельта-сон, модулированное электромагнитное поле), а также при функциональном выключении ведущих структур мозга, влияющих на устойчивость животных к эмоциональному стрессу, изменяется уровень биогенных аминов. Установленные различия ответа биогенных аминов обусловливают разный уровень адаптационных реакций животных в ответ на стрессовые воздействия, что и определяет устойчивость их сердечно-сосудистых реакций.

Список литературы

1. Судаков К.В. Системные механизмы эмоционального стресса. — М.: Медицина, 1981. — 232 с.
2. Судаков К.В. Механизмы "застойных" изменений в лимбико-ретикулярных структурах мозга при эмоциональном стрессе // Психоэмоциональный стресс Труды научного совета по эксперим. и прикладной физиологии РАМН / под ред. Судакова К.В. — М., 1992. — Т. 1. — С. 7—27.
3. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу. — М.: Горизонт, 1998. — 263 с.
4. Судаков К.В. Новые аспекты классической концепции стресса // Бюл. экспер. биол. и мед. — 1997. — Т. 123, №2. — С. 124—130.
5. Belova T.I., Kvetnansky R. Changes of catecholamine levels in individual brain nuclei in rats under prolonged immobilization // Stress. The role of catecholamines and other neurotransmitters / Ed. E. Usdin et al. — New York. London. Paris. Tokyo: Gordon and Breach Science Publ. — 1983. — Vol. 1. — P. 147—160.
6. Юматов Е.А. Нейромедиаторная интеграция эмоционального возбуждения и механизмы устойчивости к стрессу // Вестник РАМН. — 1995. — №11. — С. 9—16.
7. Aguilera G., Rabadan-Diehl C., Luo X., Kiss A. Regulation of pitutary ACTH secretion during stress: role of corticotropin releasing hormone // Stress. Molecular Genetic and Neurobiological Advances / Ed. R. McCarty, G. Aguilera, E.L. Sabban, R. Kvetnansky. — Published in The Netherlands by Harwood Academic Publishers, 1996. — Vol. 1. — P. 385—399.
8. Ganong W.F. Role of brain catecholamines in neuroendocrine responses mediated by the brain renin-angiotensin system // Stress. Molecular Genetic and Neurobiological Advances / Ed. R. McCarty, G. Aguilera, E.L. Sabban, R. Kvetnansky. — Published in The Netherlands by Harwood Academic Publishers, 1996. — Vol. 2. — P. 501—513.
9. Goldstain D.S. Stress, Catecholamines and Cardiovascular Disease // Stress. Molecular Genetic and Neurobiological Advances / Ed. R. McCarty, G. Aguilera, E.L. Sabban, R. Kvetnansky. — Published in The Netherlands by Harwood Academic Publishers, 1996. — Vol. 2. — P. 833—863.
10. Axelrod J. The relationship between the stress hormone, catecholamines, ACTG and glucocorticoids // Stress. The role of catecholamines and other neurotransmitters / Ed. E. Usdin et al. — New York — London — Paris — Tokyo: Gordon and Breach Science Publ., 1983. — Vol. 1. — P. 3—13.
11. McCarty R., Pacak K., Goldstain D.S., Eisenhofer G. Regulation of peripheral catecholamine responses to acute stress in young adult and aged F-344 rats // Stress. — 1997. — Vol. 2. — P. 113—123.
12. Мясников А.Л. Гипертоническая болезнь сердца. — М.: Медгиз, 1954. — 392 с.
13. Судаков К.В. Эмоциональный стресс: теоретические и клинические аспекты / Под ред. К.В. Судакова, В.И. Петрова. — Волгоград, 1997. — С. 59—60.
14. Kvetnansky R., Pacac K., Fukuhara K., Viskupic E., Hiremagalur B., Nankova B., Goldstain D.S., Sabban E.L., Kopin I.J. Peripheral catecholamine synthesis, release and metabolism during stress: acute versus chronic effects of hypercortisolemia // Ann. New York Academy of Science. — 1995. — Vol. 771. — P. 131—158.
15. Судаков С.К. Динамика индивидуальных сердечно-сосудистых реакций у кроликов в условиях острого экспериментального эмоционального стресса // Бюл. экспер. биол. и мед. — 1980. — №6. — С. 662—664.
16. Горбунова А.В., Каштанов С.И., Петров К. Биогенные амины в ганглиях вегетативной нервной системы при эмоциональном стрессе: роль ангиотензина-II // Психоэмоциональный стресс: Тр. научного совета по эксперим. и прикладной физиологии РАМН / Под ред. Судакова К.В. — М., 1992. — Т. 1. — С. 129—137.
17. Dahlstrom A., Fuxe K. Evidence for the existence of monoamine containing neurons in the central nervous system. Demonstration of monoamine on the cell bodies of brain stem neurons // Acta physiol. scand. — 1964. — Vol. 62, Suppl. 232. — P. 1—55.
18. Hall C.S. Emotional behaviour in the rat. 1. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality // J. Comp. Psychol. — 1934. — Vol. 18. — P. 385—403.
19. Горбунова А.В., Белова Т.И. Биогенные амины структур мозга крыс генетически различных линий в условиях стресса // Ж. высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова. — 1992. — Т. 42. — С. 363—371.

20. Kvetnansky R., Mikulaj L. Adrenal and urinary catecholamines in rats during adaptation to repeated immobilization stress in rats // Endocrinology. — 1970. — Vol. 87. — P. 738—743.

21. Ivanov E.I., Kotov A.V. System Mechanism of Motivation. — London, 1987. — Vol. 1. — P. 131—151.

22. Юматов Е.А., Мещерякова О.А., Певцова Е.И. Устойчивость крыс разных линий к эмоциональному стрессу в условиях экспериментальной модели агрессивно-конфликтного поведения // Рук. деп. ВИНИТИ. — 10.01. — №7697-В87. — 1987.

23. Коплик Е.В. Перегородка мозга в механизмах индивидуальной устойчивости к эмоциональному стрессу // Бюл. экспер. биол. и мед. — 1997. — Т. 124. — С. 501—506.

24. Fifkova E., Marsala J. Stereotaxic atlases for the Cat, Rabbit and Rat Brain. — Praha: SZN, 1960.

25. Горбунова А.В., Салиева Р.М., Лобанова Н.Н., Ионочкина И.Н., Петрова С.Ю., Дедов В.И. Содержание биогенных аминов в мозгу у крыс с разной устойчивостью к эмоциональному стрессу // Физиол. журнал СССР им. И.М. Сеченова. — 1995. — №5. — С. 14—22.

26. Palkovits M. Isolated removal of hypothalamic or other brain nuclei of the rat. Isolated removal of hypothalamic or other brain nuclei of the rat // Brain Res. — 1973. — Vol. 59. — P. 449—450.

27. Edstrom J.-E. Ribonucleic acid mass and concentration in individual nerve cells. Ribonucleic acid mass and concentration in individual nerve cells // Biochem. et Byophys. acta. — 1953. — Vol. 12. — P. 361.

28. Edstrom J.-E. Quantitative determination on RNA in the micromicrogram range. Quantitative determination on RNA in the micromicrogram range // J. Neurochem. — 1958. — Vol. 3. — P. 100.

29. Edstrom J.-E. Microextraction and microelectrophoresis for determination and analysis of nucleic acids in isolated cellular units // Methods in cell physiology / Ed. by David. — 1964. — Vol. 1. — P. 417.

30. Максимовский Л.Ф. К методике определения ультрамикроколичеств РНК в изолированных клетках // Цитология. — 1969. — Т. 11, №4. — С. 522.

31. Бродский В.Я. Трофика клетки. — М.: Наука, 1986. — 355 с.

32. Mayer Q.S., Shoup R.E. Simultaneous multiple electrode liquid chromatographic electrochemical assay for catecholamines, indoleamines metabolites in brain tissue // J. Chromatography. — 1983. — Vol. 255. — P. 533—544.

33. Glenner G.G., Burtner H.J., Brown G. The histochemical demonstration of monoamine oxidase activity by tetrazolium salts // J. Histochem. Cytochem. — 1957. — Vol. 5. — P. 591—602.

34. Буданцев А.Ю. Моноаминергические системы мозга. — М.: Наука, 1976. — 192 с.

35. Zigmond R.E., Chalazonitis A. Long-term effects of preganglionic nerve stimulation on tyrosine hydroxylase activity in the rat superior cervical ganglion // Brain Res. — 1979. — Vol. 164. — P. 137—152.

36. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — Vol. 193. — P. 265—275.

37. Португалов В.В., Гончарук В.Д. О механизме изменений нервных клеток при остром экспериментальном эмоциональном стрессе // Бюл. эксперим. биол. и мед. — 1981. — №6. — С. 745—748.

38. Гончарук В.Д., Герштейн Л.Д., Португалов В.В. Активность аминопептидазы в нейронах узловатого ганглия блуждающего нерва при остром экспериментальном эмоциональном стрессе // Цитология. — 1984. — №6. — С. 747—751.

39. Kvetnansky R., Wies V.K., Thea N.B., Kopin I.J. The origin of plasma epinephrine, norepinephrine and dopamine levels in stressed rats. Catecholamines: Basic and Clinical Frontiers // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1979. — Vol. 209. — P. 287—291.

40. Kvetnansky R. Recent progress in catecholamines under stress // Catecholamines and Stress: Recent Advances / Ed. E. Usdin, R. Kvetnansky, I.J. Kopin. — Noth Holland — New York — Amsterdam: Elsevier, 1980. — P. 7—18.

41. McCarty R., Kvetnansky R., Kopin I.J. Plasma catecholamines in rats: daily variations basal levels and increments in respons to stress // Physiol. Behav. — 1981. — Vol. 26. — P. 27—31.

42. Hadjiconstantinou M., Potter P.E., Neff H.N. Transsynaptic modulation via muscarinic receptors of serotonin-containing SIF cells of superior cervical ganglion // J. Neurosci. — 1982. — Vol. 2. — P. 1836—1839.

43. Афанасьев Ю.И. Научная сессия отделения медико-биологических наук АМН СССР по проблеме "Эмоциональный стресс и его роль в сердечно-сосудистой патологии" // Вестн. АМН СССР. — 1975. — №9. — С. 88—94.

44. Ульянинский Л.С., Степанян Е.П., Агапова Э.И. и др. Сердечные аритмии гипоталамического происхождения // Кардиология. — 1978. — №4. — С. 94—99.

45. Португалов В.В., Петрова Н.В., Каштанов С.И., Манухин Б.Н. Содержание биогенных моноаминов в узлах автономной нервной системы кролика при остром экспериментальном эмоциональном стрессе // Пат. физиол., и эксперим. терапия. — 1981. — №5. — С. 28—32.

46. Никитин М.В., Демин Ю.М. Функциональные взаимоотношения симпатической нервной системы и гипоталамо-гипофизарно-адреналового комплекса // Архив анатомии, гистологии и эмбриологии. — 1979. — Т. 76, №6. — С. 65—71.

47. Киселева З.М. Сердце и катехоламины с позиций адаптационно-трофической функции симпатико-адреналовой системы // Кардиология. — 1988. — №8. — С. 10—14.

48. Плисс М.Г. Особенности изменения артериального давления при эмоциональных воздействиях // Матер. 6-й Всесоюзн. конф. по физиологии вегетативной нервной системы. — Ереван, 1986. — С. 250.

49. Кассиль В.Г., Буткевич И.П. Онтогенетические характеристики участия блуждающих нервов в регуляции эмоционального статуса собаки // Физиол. журнал СССР им. И.М. Сеченова. — 1982. — Т. 68, №2. — С. 187—191.

50. Маркель А.Л., Бородин П.М., Осадчук А.В. и др. Значение генетических факторов в формировании гипертензивной реакции при эмоциональном стрессе // Изв. СО АН СССР, Сер. биол. наук. — 1976. — №1. — С. 117—121.

51. Юматов Е.А., Скоцеляс Ю.Г. Сравнительный анализ устойчивости функций сердечно-сосудистой системы у крыс разных линий при иммобилизации // Журн. высш. нервн. деят. — 1979. — Т. 29. — С. 345—352.

52. Кветнанский Р., Белова Т.И., Опршалова З., Понец И., Индра А., Душкин В.А. Катехоламины плазмы крови у крыс линий Август и Вистар при эмоциональном стрессе // Физ. журн. СССР им. И.М. Сеченова. — 1981. — Т. 67, №3. — С. 516—523.

53. Гордиенко Н.И. Катехоламиновая система мозга крыс с наследственной индуцируемой стрессом артериальной гипертензией // Онтогенетические и генетико-эволюционные аспекты нейроэндокринной регуляции стресса. — Новосибирск: Ин-т цитологии и генетики СО АН СССР, 1988. — С. 35.

54. Дыгало Н.Н., Юрин Н.С., Быкова Т.С., Науменко Е.В. Нейрохимическая основа длительной гормональной модификации стрессорной реактивности // Онтогенетические и генетико-эволюционные аспекты нейроэндокринной регуляции стресса. — Новосибирск: Ин-т цитологии и генетики СО АН СССР, 1988. — С. 52—53.

55. Заславец К.И. Плейотропное влияние генов меланиновой окраски на особенности обмена нейромедиаторов у мышей в условиях эмоционального стресса // Онтогенетические и генетико-эволюционные аспекты нейроэндокринной регуляции стресса. — Новосибирск: Ин-т цитологии и генетики СО АН СССР, 1988. — С. 58—60.

56. Slater J., Blizard D.A., Pohorecky L.A. Central norepinephrine metabolism in rat strains selectively bred for differences in response to stress // Pharmacol. Biochem. Bechav. — 1977. — Vol. 6, №5. — P. 511—520.

57. Sudak H.S., Maas J.W. Central nervous system serotonin and norepinephrine localization in emotional and nonemotional strains in mice // Nature. — 1964. — Vol. 203, №4951. — P. 1254—1256.

58. Стрекалова Т.В. Особенности оборонительного поведения у крыс с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу: эффекты пептида, вызывающего дельта-сон: Автореф. дисс. к.м.н. — М.: НИИНФ им. П.К. Анохина РАМН, 1996. — 24 с.

59. Юматов Е.А. Центральные нейрохимические механизмы устойчивости к эмоциональному стрессу: Автореф. дисс. д.м.н. — М.: НИИНФ им. П.К. Анохина РАМН, 1986.

60. Семенова Т.П., Иванова В.А., Третьяк Т.М. Содержание НА, ДА и серотонина в мозге крыс, различающихся уровнем двигательной активности // Журн. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. — 1979. — Т. 29, №3. — С. 640—642.

61. Giacalone E., Kostowski W. Giacalone E., Kostowski W. Lesions of midbrain raphe in the rat: effect on level of biogenic amines in forebrain and spinal cord // Pharmacol. Res. Commun. — 1969. — №1. — P. 84—88.

62. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. — М.: Медицина, 1988. — 253 с.

63. Pickel V.M., Joh T.H., Reis D.J. A serotonergic innervation of noradrenergic neurons in nucleus locus coeruleus: demonstration by im-

munocytochemical localization of the transmitter specific enzymes tyrosine and tryptophan hydroxylase // Brain Res. — 1977. — Vol. 131. — P. 197—214.

64. Ornstein K., Milon H., McRae Dequeurce A.T. et al. Biochemical and radioautographical evidence for dopaminergic afferents of the locus coeruleus originating in the ventral tegmental area // J. Neurol. Trasmiss. — 1987. — Vol. 70. — P. 183—191.

65. Mascio M.D., Esposito E. The degree of inhibition of dopaminergic neurons in the ventral tegmental area induced by selective serotonin reuptake inhibitors is a function of the density-power — spectrum of the interspike interval // Neuroscience. — 1997. — Vol. 79. — P. 957—961.

66. Горбунова А.В., Белова Т.И., Каштанов С.И. Активность моноаминоксидазы в ядрах мозга кролика в условиях острого экспериментального эмоционального стресса // Цитология. — 1984. — Т. 26. — С. 1317—1320.

67. Филаретов А.А., Подвигина Т.Т., Филаретова Л.П. Адаптация как функция гипофизарно-адренокортикальной системы. — СПб.: Наука, 1994. — 131 с.

68. Pfeiffer E.F. Effects of neurotransmitters on the release of corticotropin releasing hormone (CRG) by rat hypothalamic tissue in vitro // Exp. Brain Res. — 1980. — Vol. 39. — P. 229—234.

69. Plotsky P.M. Facilitation of immunoreactive corticotropin-releasing factor secretion into the hypophysal-portal circulation after activation of catecholaminergic pathways on central norepinephrine injection // Endocrinology. — 1987. — Vol. 121. — P. 924—930.

70. Valentino R.J. Facilitation of immunoreactive corticotropin-releasing factor secretion into the hypophysal-portal circulation after activation of catecholaminergic pathways on central norepinephrine injection // Adv. Exp. Med. Biol. — 1988. — Vol. 245. — P. 47—64.

71. Cedarbaum J.M., Aghajanian G.K. Noradrenergic neurons of the locus coeruleus: inhibition of epinephrine and activation by the L-antagonist piperoxane // Brain Res. — 1976. — Vol. 112. — P. 413—419.

72. Waldmeier P.C., Delini Stuba A.A. Serotonin-dopamine interactions in the nigro-striatal system // Eur. J. Pharmacol. — 1979. — Vol. 55. — P. 363—373.

73. Seymour M., Antelman M., Lowis A.C. Stress: its effect on interactions among biogenic amines and role in the induction and treatment of desease // Handbook of psychopharmacology, Drugs, neurotransmitters and behavior / Ed. Iverson L.L. et al. — New York — London, 1984. — Vol. 18. — P. 279—341.

74. Astier B., Kitakama K., Denoroy L. et al. Biochemical evidence for an interaction between adrenaline and noradrenaline neurons in the rat brainstem // Brain Res. — 1986. — Vol. 397. — P. 333—340.

75. Palkovits M. Effect of stress on catecholamines and neuropeptide containing neurons in the central nervous system // Stress. The Role of Catecholamines and Other Neurotransmitters / Ed. E. Usdin, R. Kvetnansky, J. Axelrod. — New York — London — Paris — Montreux — Tokyo: Gordon and Breach Science Publishers. — 1983. — Vol. 1. — P. 75—80.

76. Matsui H. Adrenal medullary secretion in response to diencephalic stimulation in the rat // Neuroendocrinology. — 1984. — Vol. 38. — P. 164—168.

77. Дашзэвэг Г. Динамика соматовегетативных изменений при эмоциональном стрессе гипоталамического происхождения: Автореферат дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — М.: НИИНФ им. П.К.Анохина РАМН, 1974

78. Wolf W.A., Kuhn D.M., Lovenberg W. Serotonin and central regulation of arterial blood pressure // Serotonin and the Cardiovascular System / Ed. P.M. Vanhoutte. — NY.: Raven Press, 1985. — P. 63.

79. Nosjean A., Franc B., Laguzzi R. Increased sympathetic nerve discharge without alteration in the sympathetic baroreflex response by serotonin receptor stimulation in the nucleus tractus solitarius of the rat // Neurosci. Lett. — 1995. — Vol. 186. — P. 41—44.

80. Маркель А.Л., Осадчук А.В. Генетико-физиологические механизмы гипертензивной реакции при эмоциональном стрессе у крыс // Кардиология. — 1978. — Т. 18. — С. 107—112.

81. Вальдман А.В., Пошивалов В.П. Фармакологические реакции внутривидового поведения. — Л.: Медицина, 1984. — 208 с.

82. Пошивалов В.П. Экспериментальная психофизиология агрессивного поведения. — Л.: Наука, Ленинградское отделение, 1986. — 174 с.

83. Серова Л.И., Сахаров Д.Г., Науменко Е.В. Генетико-нейроэндокринные механизмы зоосоциального доминироания // Онтогенетические и генетико-эволюционные аспекты нейроэндокринной регуляции стресса. — Новосибирск, 1988. — С. 171—172.

84. Серова Л.И., Козлова О.Н., Науменко Е.В. Значение генотипа и некоторых индивидуальных особенностей поведения для проявления доминантного фенотипа у мышей в микропопуляциях // Ж. высш. нервн. деят. им. И.П. Павлова. — 1991. — Т. 41, №1. — С. 79—81.

85. Castren E., Kurihara M., Gutkind J.S., Saavedra J.M. Specific angiotensin II binding sites in the rat stellate and superior cervical ganglia // Brain Res. — 1987. — Vol. 422. — P. 347—351.

86. Phillips M.J. Function of angiotensin in the central nervous system // Ann. Rev. Physiol. — 1987. — Vol. 49. — P. 413—435.

87. Jin-emon Konishi: Lecture in Honor of Receiving "Clemens van Pirquet Award". — California, 1989.

88. Судаков К.В., Бадиков В.И. Нейротропин: различные аспекты действия, клиническое применение // Медицинская радиология. — 1991. — №8. — С. 51—54.

89. Коплик Е.В., Урбанич Р. Пептид, вызывающий дельта-сон в механизме изменения кровотока в коре головного мозга, вызванного раздражением вентромедиального гипоталамуса и корковых структур // Проблемы физиологии гипоталамуса. — 1987. — Вып. 2. — С. 82—87.

90. Судаков К.В. Антистрессорные эффекты пептида, вызывающего дельта-сон // Физ. ж. СССР им. И.М. Сеченова. — 1991. — Т. 77, №3. — С. 1—13.

91. Панченко Л.Ф., Фирстова Н.В., Митюшина Н.В., Генгин М.Т. Регуляторные пептиды и ферменты их обмена в молекулярных механизмах развития стресс-реакции // Нейрохимия. — 2000. — Т. 17, №2. — С. 83—92.

92. Davis M. The role of the amygdala in conditioned fear // The amygdala in neurobiological aspects of emotion, memory and mental dysfunction / Ed. Aggleton J. — NY.: Wiley-Idss, Inc., 1991. — P. 255—305.

93. Melia K.R., Sananes C.B., Davis M. Lesions of the central nucleus of the amigdala block the exitatory effects of septal ablation on the acoustic startle reflex // Phys. Beh. — 1991. — Vol. 51. — P. 175—180.

Brain content of biogenic amines and stability of cardio-vascular reaction under emotional stress

GORBUNOVA A.V.

P.K. Anokhin Institute of Normal Physiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

The aim of the present study was to evaluate individual adaptation reaction (by biogenic amines content and their metabolic enzymes, structural and water soluble protein and the total RNA content) of nodose ganglion of vagus, stellatum, superior cervical ganglion and brain nucleus involved in central mechanisms of maintaining arterial pressure under emotional stress different duration. Emotional stress was induced in immobilized rabbits by simultaneous aperiodic stimulation of the hypothalamus and skin. During the experiment (3 hours) rabbits were recorded blood pressure. Also August and Wistar rats with different behavioural characteristics in "open field" test were immobilized during 38 and 48 hours with rest. Data was showed that stellatum, superior cervical sympathetic ganglia activity were correlated with changing arterial pressures. It was shown the participation of nodose ganglion in the maintenance of stable cardio-vascular functions in extreme conditions. It has been demonstrated that the biogenic amines level in the ganglion of autonomic nervous system and also hypothalamus, cortex, midbrain, medulla oblongata nuclei determine the maintenance of cardio-vascular function. Resistance was connected with increase of activity of noradrenergic system in a number of brain structures don't accompany exhaustion of neurons; in turn the activity of the stress-limiting dopaminergic, serotoninergic, adrenergic systems could have modulatory effects on the noradrenergic system.

Key words: *Brain, biogenic amines, blood pressure, emotional stress, August and Wistar rats, rabbits*

Креатин эффективен для профилактики неврологических и когнитивных нарушений, вызванных глобальной ишемией головного мозга у крыс*

МУРОВЕЦ В.О.[1], ЛЕНЦМАН М.В.[1], АРТЕМЬЕВА А.И.[1], БАЛЕСТРИНО М.[2], ПОЛЕНОВ С.А.[1]

[1] Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия
[2] Университет Генуи, Генуя, Италия

Глобальная ишемия мозга индуцировалась у наркотизированных крыс-самцов линии Спрег—Доули путем пережатия обеих сонных артерий на 12 мин с одновременным управляемым снижением системного артериального давления до 45 мм рт. ст. Экспериментальные растворы непрерывно инфузировались в боковой желудочек мозга через имплантированную за 5 дней до индуцирования ишемии канюлю, соединенную с осмотическим мини-насосом. Неврологический статус определяли за 1 день до индуцирования ишемии и на 2-й и 7-й день после индуцирования. Когнитивные способности исследовали в пространственной версии водного теста Морриса. Обучение в водном тесте начиналось на 2-й день после ишемии и продолжалось в течение 6 последующих дней. Интрацеребровентрикулярная инфузия креатина в сравнении с инфузией физиологического раствора предупреждала развитие неврологических нарушений и ослабляла когнитивные нарушения, вызванные глобальной ишемией головного мозга у крыс.

***Ключевые слова**: глобальная ишемия мозга, креатин, водный тест Морриса, неврология, поведение, крысы*

Введение

Исключительная важность адекватного кровоснабжения головного мозга обусловлена тем, что энергетика мозга почти целиком базируется на окислительном фосфорилировании [19]. Снижение уровня АТФ и фосфокреатина в ткани мозга может рассматриваться как один из решающих факторов развития необратимого нарушения функции мозга при ишемии и гибели нейронов [10, 14, 23]. Таким образом, восполнение или увеличение мозговых запасов макроэргических соединений — АТФ, фосфокреатина — является перспективным методом профилактики и лечения ишемии головного мозга.

В 1980-х годах в моделях гипоксии *in vitro* на срезах гиппокампа была продемонстрирована эффективность введения креатина для повышения уровня мозгового фосфокреатина, так как благодаря отсрочке истощения запасов АТФ это предохраняло от разрушительного действия аноксии [2, 3, 5, 9, 22, 24]. Однако, в отличие от многочисленных данных для моделей ишемии *in vitro*, данные для моделей *in vivo* пока крайне ограничены и фактически не затрагивают важнейшего вопроса об эффективности креатина для профилактики и лечения функциональных расстройств, включая поведенческие, эмоциональные и моторные нарушения, вызванные ишемией. Именно эти нарушения препятствуют возвращению перенесших ишемию пациентов к нормальному ритму жизни и во многих случаях приводят к невозможности реадаптации.

Фактором, затрудняющим исследование эффектов креатина в *in vivo* моделях ишемии мозга, является весьма слабая проницаемость гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) для полярных молекул, к которым относится креатин. Таким образом, эффективность его системного введения должна быть весьма невелика, а аккумуляция в мозге — незначительна. Действительно, хотя для переноса креатина через ГЭБ существует специальный мозговой переносчик [20], при парентеральном введении даже высоких его доз аккумуляция в мозге была очень ограниченной [15]. При этом даже для демонстрации нейропротекторых свойств креатина *in vitro* требуются высокие его концентрации — около 1 мМ при 3-часовой предварительной инкубации [3]. Несмотря на вышеописанные ограничения, для *in vivo* моделей ишемии уже было показано, что при предварительном введении креатина наблюдается тенденция к уменьшению степени поражения тканей мозга при глобальной ишемии [21], а введение фосфокреатина подавляет связанные с развитием ишемического поражения процессы окисления жиров в нейронах [16]. Более того, недавно на модели инсульта головного мозга — фокальной ишемии головного мозга — было продемонстрировано, что простое обогащение диеты мышей креатином в течение месяца способно снизить степень как нейрональных, так и неврологических нарушений, выявляемых после ишемии [27].

В настоящей работе рассматривается вопрос об эффективности профилактического введения креатина в отношении неврологических и когнитивных нарушений после глобальной ишемии мозга у крыс. Модель воспроизводит ситуацию падения общего мозгового кровотока (гипоперфузии мозга в целом), вызванную атеросклеротическим поражением сосудов в старческом возрасте либо возникающую при операциях на открытом сердце [7, 8, 18]. В связи с уже упомянутой проблематичностью создания эффективных концентраций креатина в тканях мозга при системном введении нами была выбрана прямая постоянная инфузия в боковой желудочек мозга через заранее имплантированную канюлю, соединенную с осмотической мини-помпой. Эффективность данной методики для повышения уровня мозгового фосфокреатина уже была показана ранее [17]. Этот путь введения неприемлем для использования в клинике, однако он позволяет найти ответ на вопрос, будет ли креатин в концентрациях, сопоставимых с эффективными *in vitro*, эффективен и для *in vivo* моделей ишемии мозга.

* Исследование поддержано грантами INTAS №2000-0441 и РФФИ-ОФИ №05-04-08072.

Материалы и методы

Исследования проведены на 25 самцах крыс линии Спрэг—Доули массой 250—300 г из вивария Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург, Россия). Животные содержались в виварии лаборатории в клетках по 4—5 особей при регулируемом световом режиме (12/12 ч) и температурном режиме (22—24 С), имели доступ к пище и воде ad libitum. До начала экспериментов всех животных в течение нескольких дней приучали к рукам, а за сутки до хирургических операций лишали пищи.

Индуцирование глобальной ишемии

Всем животным под кетаминовым наркозом в левый желудочек мозга имплантировалась канюля, соединенная гибкой трубочкой с осмотической мини-помпой (Alzet-Pump® mod. 1002), заполненной исследуемым раствором и размещаемой на спине подкожно. Помпа обеспечивала непрерывное поступление исследуемого раствора со скоростью 0,25 мкл/ч в течение всего периода исследования (12 дней). Использовались стандартный физиологический раствор для групп контроля (15 крыс) и раствор креатина в концентрации 50 мМ для экспериментальной группы (10 крыс). Все животные экспериментальной группы и 8 крыс из группы с инфузией физиологического раствора через 5 дней после канюлирования были подвергнуты ишемии головного мозга. Глобальная ишемия мозга индуцировалась под нембуталовым наркозом путем пережатия обеих каротидных артерий с одновременным снижением кровяного давления до 45 мм рт. ст. на 12 мин.

Неврологическое тестирование

Для оценки степени неврологических нарушений, вызванных глобальной ишемией головного мозга, использовалась немного модифицированная девятибалльная шкала Комбса и Д'Алеси [6]. При этом итоговый балл определялся суммой баллов по трем тестам, оценивающим равновесие, мышечную силу и хватательный рефлекс. В соответствии с данной шкалой минимальное возможное значение составляет 0 баллов (максимальная выраженность неврологических нарушений), а максимальное — 9 баллов (отсутствие каких-либо нарушений). Тестирование проводилось трижды: за 1 день до ишемии, на 2-й и на 7-й дни после ишемии. Исследование включало 3 теста.

1. *Тест с наклонной платформой.* Животное помещалось на горизонтальное сетчатое панно размерности 60 38 см (крышка от клетки, ячейка 1 1 см) удерживаемое экспериментатором на высоте 1 м от пола над мягким матом. По истечении 15 с (период адаптации животного) панно переводилось в вертикальное положение. Измерялось время, в течение которого животное могло удерживаться на панно, находящемся в вертикальном положении. Верхний предел — 15 с; продолжительность висения 11—15 с оценивалась в 3 балла; 6—10 с — в 2 балла; до 5 с — в 1 балл; неспособность удерживаться — 0 баллов.

2. *Балансирование на горизонтальном шесте.* Животное помещалось на центральную часть горизонтально расположенного деревянного стержня 2,5 см в диаметре и длиной 70 см, расположенного горизонтально на высоте 70 см над полом, застеленным мягким матом. Измерялось время, в течение которого животное способно удерживаться на поверхности стержня. Верхний предел — 15 с; продолжительность балансирования 11—15 с оценивалась в 3 балла; 6—10 с — в 2 балла; до 5 с — в 1 балл; неспособность удерживаться — 0 баллов.

3. *Тест на висение.* Измерялось время, в течение которого животное было способно провисеть, уцепившись передними лапами за стальной трос диаметром 5 мм, растянутый горизонтально на высоте 70 см от поверхности мата. Верхний предел — 5 с; продолжительность висения 4—5 с оценивалась в 3 балла; 3—4 с — в 2 балла; до 2 с — в 1 балл; неспособность удерживаться — 0 баллов; кроме того, если животное цеплялось и передними, и задними конечностями, но при этом продолжительность висения была недостаточной для максимальной оценки, добавлялся еще один балл.

Интервал между тестированиями во всех опытах составлял 15 мин.

Пространственная версия водного теста Морриса

Для исследования эффекта предварительного введения креатина на когнитивные нарушения, вызванные ишемией головного мозга, использовалась пространственная версия водного теста Морриса — стандартный тест на исследование процессов обучения и памяти [4]. Обучение в водном тесте производилось по стандартной схеме [12] и начиналось на второй день после ишемии. В течение 6 дней ежедневно каждое животное выполняло 4 попытки поиска скрытой платформы (диаметр 12 см, заглубление 1 см), расположенной на протяжении всего обучения в центре одного из квадрантов круглого бассейна диаметром 150 см, заполненного водой (t=24 С). Точки старта менялись в псевдослучайной последовательности: ежедневно использовались все 4 стартовые точки, но последовательность их использования каждый день была разной. Время поиска животным платформы фиксировалось с помощью секундомера. Максимальное время поиска ограничивалось 120 с, между попытками животное находилось на платформе в течение 30 с. Данные по времени поиска для четырех последовательных попыток в течение одного дня усреднялись, формируя обобщенный показатель «навигационных» способностей данного дня.

Статистика

Для статистических сравнений использовался пакет программ Statistica® 6.0 (StatSoft Inc., Tulsa, USA). Все результаты представлены в виде средней и ошибки средней. Статистический анализ неврологических данных проводился с использованием непараметрических критериев. Для межгрупповых сравнений использовался U-критерий Манна—Уитни; для сравнения изменений неврологического статуса между тестами в пределах одной группы применялись ранговый дисперсионный анализ Фридмана и критерий Вилкоксона парных сравнений для post-hoc анализа. Статистический анализ данных по времени поиска в водном тесте Морриса проводился методом двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA, факторы — день обучения, воздействие) с последующим post-hoc анализом с использованием теста Фишера. Во всех экспериментах был принят уровень достоверности различий $p<0,05$.

Результаты и обсуждение

На 2-й день после индуцирования глобальной ишемии головного мозга у крыс из группы контроля (с инфузией физраствора) наблюдались значительные неврологические нарушения (рис. 1), которые полностью исчезали к 7-му дню после ишемии ($p<0,01$, ANOVA Фридмана). Наблюдаемые неврологические нарушения были сопоставимы с опи-

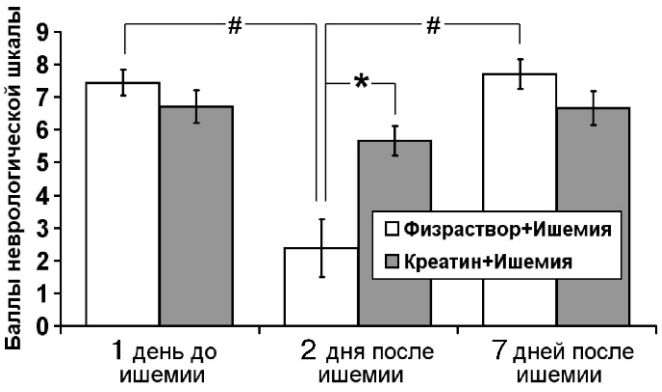


Рис. 1. Влияние продолжительной интрацеребровентрикулярной инфузии креатина (50 мМ) на неврологический статус крыс после глобальной ишемии головного мозга. Тестирование проводилось трижды — перед ишемией (4-й день инфузии препаратов), на 2-й и 7-й дни после ишемии. Данные представлены как средняя ± ошибка средней. Статистически достоверные различия между группами: * — $p<0,05$ (U-тест); # — $p<0,05$ для каждой группы между днями обучения (критерий Вилкоксона парных сравнений)

санными в литературе [6, 11, 13]. Таким образом, использованный набор тестов был адекватен задаче исследования.

В сравнении с группой контроля животные из группы с предварительным введением креатина не демонстрировали снижения неврологического статуса на 2-й день после ишемии (рис. 1; $p>0,36$, ANOVA Фридмана). Отличия от контрольной группы были достоверны ($p<0,05$, U-критерий). К 7-му дню после ишемии неврологический статус крыс этой группы несколько повышался, но различия были недостоверны ($p>0,36$, ANOVA Фридмана).

Все группы, обучавшиеся в водном тесте (рис. 2) демонстрировали обучаемость независимо от характера воздействия: время поиска достоверно снижалось (эффект «день обучения» — $F(5, 140) = 47,73$ при $p<0,001$). Между группами не было различий по темпам обучения (эффект «день обучения» «воздействие» — $F(10, 140) = 1,47$ при $p>0,15$), однако они достоверно различались по времени поиска (эффект «воздействие» — $F(2, 28) = 17,74$ при $p<0,001$).

Последующий анализ (LSD тест Фишера) показал, что животные, которым проводилась инфузия физраствора, перенесшие ишемию, в течение всего периода обучения тратили на поиск платформы достоверно большее время, чем крысы контрольной группы без ишемии (при $p<0,05$ и ниже; см. рис. 2). Таким образом, глобальная ишемия действительно вызывала когнитивные нарушения, которые соответствовали литературным данным [4], и использование данного теста было адекватно задаче исследования.

Сравнение групп, перенесших глобальную ишемию, показало, что животные с инфузией креатина достоверно быстрее находили платформу в самый первый день обучения (различия достоверны при $p<0,05$). В остальные дни они тратили на поиск платформы также несколько меньшее время (без статистической достоверности на 2-й, 3-й, 4-й, 5-й дни: $p>0,1$; тенденция на 6-й день: $p=0,051$). Кроме того, в сравнении с группой контроля без ишемии, животные группы с инфузией креатина и ишемией тратили статистически достоверно большее время на поиск платформы только в первые 3 дня с начала обучения ($p<0,05$; подробнее — на рис. 2), и не различались по времени поиска в последующие дни ($p>0,1$). Таким образом, предварительно начатая инфузия креатина значительно ослабляла негативное влияние глобальной ишемии мозга на пространственное обучение в водном тесте Морриса.

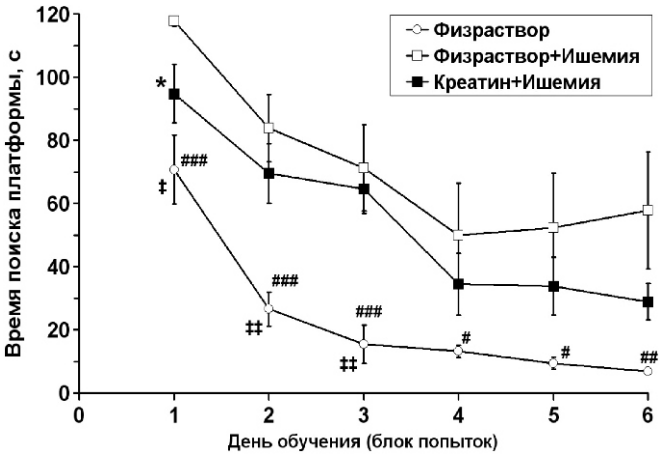


Рис. 2. Влияние глобальной ишемии головного мозга на обучение в водном тесте Морриса крыс с продолжительной интрацеребровентрикулярной инфузией креатина (50 мМ) или физраствора: обучение начиналось на 2-й день после индуцирования глобальной ишемии (7-й день после начала инфузии); данные представлены как средняя ± ошибка средней. Статистически достоверные различия: * — $p<0,05$ (между группами с ишемией; тест Фишера); # — $p<0,05$; ## — $p<0,01$; ### — $p<0,001$ (между группами с инфузией физраствора); ‡ — $p<0,05$; ‡‡ — $p<0,01$ (между группой с инфузией креатина и группой с ишемией и инфузией физраствора)

Заключение

В данной работе нами впервые было показано, что предварительное введение креатина эффективно предупреждает неврологические нарушения и ослабляет когнитивные нарушения, вызванные глобальной ишемией головного мозга у крыс.

Список литературы

1. Balestrino M. Pathophysiology of anoxic depolarization: new findings and a working hypothesis // J. Neurosci. Methods. — 1995. — Vol. 59. — P. 99—103.

2. Balestrino M., Lensman M., Parodi M., Perasso L., Rebaudo R., Melani R., Polenov S., Cupello A. Role of creatine and phosphocreatine in neuronal protection from anoxic and ischemic damage // Amino Acids. — 2002. — Vol. 23. — P. 221—229.

3. Balestrino M., Rebaudo R., Lunardi G. Exogenous creatine delays anoxic depolarization and protects from hypoxic damage: dose-effect relationship // Brain Res. — 1999. — Vol. 816, №1. — P. 124—230.

4. Block F. Global Ischemia and behavioural deficits // Progr. Neurobiol. — 1999. — Vol. 58. — P. 279—295.

5. Carter A.J., Muller R.E., Pschorn U., Stransky W. Preincubation with creatine enhances levels of creatine phosphate and prevents anoxic damage in rat hippocampal slices // J. Neurochem. — 1995. — Vol. 64, №6. — P. 2691—2699.

6. Combs D.J., D'Alecy L.G. Motor performance in rats exposed to severe forebrain ischemia: effect of fasting and 1,3-butanediol // Stroke. — 1987. — Vol. 18. — P. 503—511.

7. Herczeg L., Gorombey S., Vaszily M. Morphological damage to the central nervous system (CNS) following open heart surgery // Forensic Sci. Int. — 1996. — Vol. 79. — P. 103—111.

8. Johansson T., Aren C., Fransson S.G., Uhre P. Intra- and postoperative cerebral complications of open-heart surgery // Scand. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. — 1995. — Vol. 29, №1. — P. 17—22.

9. Kass I.R., Lipton P. Mechanisms involved in irreversible anoxic damage to the in vitro rat hippocampal slice // J. Physiol. — 1982. — Vol. 332. — P. 459—472.

10. Lipton P., Whittingham T.S. Reduced ATP concentration as a basis for synaptic transmission failure during hypoxia in the in vitro guinea-pig hippocampus // J. Physiol. — 1982. — Vol. 325. — P. 51—65.

11. Mackensen G.B., Sato Y., Nellgard B., Pineda J., Newman M.F., Warner D.S., Grocott H.P. Cardiopulmonary bypass induces neurologic and neurocognitive dysfunction in the rat // Anesthesiology. — 2001. — Vol. 95. — P. 1485—1491.

12. Morris R.G.M. Development of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat // J. Neurosc. Meth. — 1984. — Vol. 11. — P. 47—60.

13. Numagami Y., Ohnishi S.T. S-Allylcysteine inhibits free radical production, lipid peroxidation and neuronal damage in rat brain ischemia // J. Nutr. — 2001. — Vol. 131. — P. 1100—1105.

14. Obrenovitch T.P., Garofalo O., Harris R.J., Bordi L., Ono M., Momma F., Bachelard H.S., Symon L. Brain tissue concentrations of ATP, phosphocreatine, lactate, and tissue pH in relation to reduced cerebral blood flow following experimental acute middle cerebral artery occlusion // J. Cereb. Blood Flow Metab. — 1988. — Vol. 8. — P. 866—874.

15. Perasso L., Cupello A., Lunardi G.L., Principato C., Gandolfo C., Balestrino M. Kinetics of creatine in blood and brain after intraperitoneal injection in the rat // Brain Res. — 2003. — Vol. 974. — P. 37—42.

16. Rauchova H., Koudelova J., Drahota Z., Mourek J. Hypoxia-induced lipid peroxidation in rat brain and protective effect of carnitine and phosphocreatine // Neurochem. Res. — 2002. — Vol. 27. — P. 899—904.

17. Rebaudo R., Melani R., Carita F., Rosi L., Picchio V., Ruggeri P., Izvarina N., Balestrino M. Increase of cerebral phosphocreatine in normal rats after intracerebroventricular administration of creatine // Neurochem. Res. — 2000. — Vol. 25. — P. 1493—1495.

18. Shaaban A.M., Harmer M., Vaughan R.S., Dunne J., Latto I.P. Early release pattern of S100 protein as a marker of brain damage after warm cardiopulmonary bypass // Anaesthesia. — 2000. — Vol. 55. — P. 802—806.

19. Smith M.L., Auer R.N., Siesjo E.B.K. The density and distribution of ischemic brain injury in the rat following 2—10 min of forebrain ischemia // Acta Neuropathol. — 1984. — Vol. 64. — P. 319—332.

20. Snow R.J., Murphy R.M. Creatine and the creatine transporter: a review // Mol.Cell Biochem. — 2001. — Vol. 224. — P. 169—181.

21. Wick M., Fujimori H., Michaelis T., Frahm J. Brain water diffusion in normal and creatine-supplemented rats during transient global ischemia // Magn. Reson. Med. — 1999. — Vol. 42. — P. 798—802.

22. Wilken B., Ramirez J.M., Probst I., Richter D.W., Hanefeld F. Creatine protects the central respiratory network of mammals under anoxic conditions // Pediatr. Res. — 1998. — Vol. 43. — P. 8—14.

23. Yager J.Y., Kala G., Hertz L., Juurlink B.H.J. Correlation between content of high-energy phosphates and hypoxic-ischemic damage in immature and mature astrocytes // Dev. Brain Res. — 1994. — Vol. 82. — P. 62—68.

24. Yoneda K., Arakawa T., Asaoka Y., Fukuoka Y., Kinugasa K., Takimoto K., Okada Y. Effects of accumulation of phosphocreatine on utilization and restoration of high-energy phosphates during anoxia and recovery in thin hippocampal slices from the guinea pig // Exp. Neurol. — 1983. — Vol. 82. — P. 215—222.

25. Zapara T.A., Simonova O.G., Zharkikh A.A., Balestrino M., Ratushniak A.S. Seasonal differences and protection by creatine or arginine pretreatment in ischemia of mammalian and molluscan neurons in vitro // Brain Res. — 2004. — Vol. 1015. — P. 41—49.

26. Zausinger S., Hungerhuber E., Baethma nA., Ruelen H., Schmid-Elsaesser R. Neurological impairment in rats after transient middle cerebral artery occlusion: a comparative study under various treatment paradigms // Brain Res. — 2000. — Vol. 863. — P. 94—105.

27. Zhu S., Li M., Figueroa B.E., Liu A., Stavrovskaya I.G., Pasinelli P., Beal M.F., Brown R.H. (Jr.), Kristal B.S., Ferrante R.J., Friedlander R.M. Prophylactic creatine administration mediates neuroprotection in cerebral ischemia in mice // J. Neurosci. — 2004. — Vol. 24. — P. 5909—5912.

Creatine is effective in the prevention of neurological and the reduction of cognitive disturbances induced by global cerebral ischemia in rats

MOUROVETS V.O.[1], LENSMAN M.V.[1], ARTEMJEVA A.I.[1], BALESTRINO M.[2], POLENOV S.A.[1]

[1] Pavlov Institute of Physiology RASciences, Saint-Petersburg, Russia
[2] University of Genova, Genova, Italy

Global cerebral ischemia was induced in anesthetized male Sprague—Dawley rats by clamping both carotid arteries for 12 minutes with simultaneous controlled hypotension (45 mm Hg). Experimental solutions were continuously infused into the lateral cerebral ventricle via cannula (implanted 5 days prior to ischemia), connected to an Alzet osmotic minipump. Neurological status was evaluated 1 day prior to, and 2 and 7 days after, the induced ischemia. Cognitive abilities were investigated in the spatial Morris water maze. Water maze task acquisition was started on day 2 after ischemia and continued for 6 consecutive days. Here we show that creatine i.c.v. infusion as compared to saline infusion significantly prevented neurological and reduced cognitive impairments induced by global cerebral ischemia.

***Key words**: global cerebral ischemia, creatine, Morris water maze, neurology, behavior, rats*

Вероятностно-статистическое обоснование достоверности ольфакторных исследований запаховых следов человека в судебной экспертизе с использованием собак-детекторов

ПАНФИЛОВ П.Б.

Отдел экспертиз биологических объектов Экспертно-криминалистического центра МВД России, Москва, Россия

Основной экспертной задачей, решаемой с помощью судебной экспертизы запаховых следов человека, является установление происхождения запаховых следов. В качестве биодетекторов используются собаки, специально обученные для поиска индивидуального запаха человека по заданному образцу. Существующая методика проводимых экспериментов осуществляет прямой контроль над сигнальным поведением применяемых собак-детекторов. Проведенный вероятностно-статистический анализ полученных опытных данных может характеризовать статистическую достоверность идентификационных ольфакторных исследований в некоторых случаях как сопоставимую с надежностью данных ДНК-анализа и превосходящую надежность традиционных криминалистических исследований в судебной экспертизе.

***Ключевые слова**: собаки-детекторы, запаховые следы, достоверность детекции*

Введение

Основной экспертной задачей, решаемой с помощью судебной экспертизы запаховых следов человека, является установление происхождения запаховых следов на объектах, изъятых с мест происшествий, от конкретного человека. В качестве биодетекторов запаховых следов человека в идентификационном ольфакторном исследовании используются животные макросматики — собаки, специально обученные для поиска индивидуального запаха человека по заданному образцу.

В ходе разработки современных экспертных методик ольфакторного исследования [9, 10, 12—14] перед специалистами Экспертно-криминалистического центра МВД России встали вопросы контроля правильности сигнального поведения животных путем построения *оптимального алгоритма обнаружения ольфакторного* сигнала — решающей процедуры, позволяющей каждому значению поведенческой реакции животного[1] в исследовании сопоставить решение о наличии или отсутствии в обозначенном объекте искомой ольфакторной компоненты, и таким образом избежать ошибок детекции. Эти ошибки бывают двух типов: ошибки первого рода (или, иначе, вероятность ложной тревоги), когда оператором (экспертом) может быть принято решение о наличии в исследуемой пробе искомого ольфакторного сигнала в его отсутствие, и соответственно ошибки второго рода, когда может быть принято решение об отсутствии искомого ольфакторного сигнала при его наличии. На качественном уровне сущность предлагаемого подхода состоит в том, чтобы минимизировать уровень вероятности ложной тревоги и при этом условии максимизировать минимальное значение вероятности правильного обнаружения ольфакторного сигнала.

Основными источниками ложного сигнального поведения собаки в биологическом эксперименте по дифференциации запахов, служащими причинами обозначенных ошибок первого рода, могут быть:

1) тревожные состояния животного, не связанные с условиями и ходом проводимых экспериментов (неврозы, фобии, негативное психосоматическое состояние, слабый тип ВНД);

2) тревожные состояния, связанные с условиями и ходом проводимых экспериментов (сверхвысокая мотивация, наличие внешних раздражителей, тормозящих текущую деятельность животного, различного рода фрустрационные состояния, наличие в дифференцируемых запаховых объектах пахучих компонентов, вызывающих ориентировочные реакции и тревожные состояния).

Основными причинами необнаружения ольфакторного сигнала, или ошибок второго рода, как правило, бывают:

1) низкая мотивация в реализации животным требуемого навыка или его временная дезавтоматизация;

2) повышение пороговых величин обнаружения ольфакторного сигнала вследствие предшествующего процесса его обнаружения, различения и идентификации животным в процессе проводимых экспериментов [1, 3].

Кроме перечисленных обстоятельств, причинами ошибок первого и второго рода могут быть так называемые ошибки оператора, к которым могут относиться:

1) некорректная постановка задачи животному (например, использование в процессе идентификационного исследования в качестве заданных животному для поиска смешанных запаховых следов либо следов, не свободных от посторонних пахучих включений, которые могут дезориентировать животное в поиске, и т.п.);

2) образование у животного нежелательных временных связей на условия и ход проводимых экспериментов, способных негативно влиять на правильность сигнального поведения.

Необходимо отметить, что обозначенное разделение причин ошибок сигнального поведения первого и второго рода носит весьма условный характер, так как, кроме прочего, обнаружение, распознание и идентификация ольфакторного сигнала животным с последующим проявле-

[1] Условный моторный сигнал — посадка или укладка у найденной запаховой пробы

нием или отсутствием условнорефлекторной реакции представляют собой взаимосвязанные процессы деятельности сложной открытой биологической системы, функционирование которой может быть подвержено влияниям редких и спорадических факторов, в некоторых случаях носящих для исследователя латентный характер и не всегда им контролируемых.

В этой связи исходная задача формирования ольфакторного метода в судебной экспертизе включала в себя не только минимаксные принципы обнаружения искомого ольфакторного сигнала, но и предполагала учет всевозможных поддающихся и не поддающихся контролю исследователя негативных факторов, могущих влиять на достоверность получаемых данных, а также проверку собственной эффективности путем вероятностно-статистического анализа правильности получаемых в исследовании результатов.

В настоящее время задачи контроля над сигнальным поведением животного решены в методике судебной экспертизы запаховых следов человека ЭКЦ МВД России следующим образом. Для исключения стрессовых ситуаций и ориентировочных реакций, способных инициировать ложное сигнальное поведение (ошибки первого и второго рода) все биологические эксперименты проводятся в специальном закрытом лабораторном помещении, где по окружности на расстоянии метра одна от другой располагаются 10 стеклянных банок с исследуемыми и вспомогательными запаховыми пробами, специально собранными на хлопковые салфетки. Существующими методиками предусматривается составление основной части вспомогательных запаховых объектов по принципу подобия исследуемому объекту (соотносимые материалы-носители следов пахучих веществ, их исходные концентрации и т.п.), что может способствовать настройке некоторых пороговых величин чувствительности обонятельного анализатора животных в выявлении тех или иных пахучих ингредиентов.

Емкости с подготовленными к исследованию объектами располагают в металлических штативах, закрывающих банки для исключения ориентации животных на зрительный анализатор, а также возможного неумышленного влияния на работу собак управляющего ими специалиста, который специально не информирован о месте расположения тех или иных запаховых объектов в сравнительном ряду.

Экспертному исследованию предшествует тест собаки и сравнительного ряда объектов. В течение минуты собаку побуждают для запоминания нюхать в открытой стеклянной емкости салфетку с исходной для поиска запаховой пробой, полученной из крови непричастного к расследуемому происшествию лица, чьи запаховые образцы пота располагают в сравнительном ряду объектов в качестве эталонной пробы. После этого собаку проводят вдоль открытых емкостей сравнительного ряда для поочередного обнюхивания помещенных в них запаховых проб. При этом движение с собакой всегда начинается со вспомогательной пробы через исследуемый запаховый объект и заканчивается у эталонного объекта. При обнаружении среди сравнительного ряда запаховой пробы с заданным запахом, собака принимает выработанную дрессировкой сигнальную позу — садится у этого объекта.

Тест собаки и ряда выявляет функциональную пригодность животного на момент применения, правильность ориентации на поиск объектов по индивидуализирующим человека пахучим ингредиентам, а не абстрактной общности пахучих составляющих заданной и искомой проб, а также позволяет проверить исследуемые объекты на наличие в них аттрактивных пахучих компонентов, способных вызвать ложное сигнальное поведение. Причем проверка запаховых объектов на наличие в них пахучих помех осуществляется в условиях аналогичного стереотипного поведения, как и в случае предстоящего идентификационного этапа исследования. Наличие в сравнительном ряду эталонной запаховой пробы предотвращает фрустрацию, инициирующую тревожное состояние животного и, как следствие, ложное сигнальное поведение. Предварительное ознакомление животного с запаховыми объектами сравнительного ряда в дальнейшем снижает возможное проявление ориентировочно-исследовательских реакций на предъявленные пробы, предварительно настраивает обонятельный анализатор животного на поиск определенных запахов.

После тестирования сравнительного ряда эталонная проба заменяется в ряду вспомогательным запаховым объектом и начинается идентификационный этап исследования, когда в качестве исходной для запоминания собаке задается проба из крови проверяемого лица, в то время как в сравнительном ряду, состоящем из исследуемого и вспомогательных объектов, располагается проба, характеризуемая запахом пота проверяемого лица (эталон). Сигнальное поведение собаки на исследуемую запаховую пробу интерпретируется экспертом как сигнал узнавания заданного к поиску запаха при обязательной сигнальной реакции на эталонную пробу и отсутствии сигнальной реакции на вспомогательные запаховые объекты сравнительного ряда, и при воспроизводимости полученных результатов с одним и тем же животным в нескольких экспериментах. Перед каждым пуском собаки на поиск заданного запаха заново расставляют объекты сравнительного ряда, каждый раз обеспечивая случайный порядок мест их расположения. Это делается для предотвращения эффекта «предпусковой интеграции», которая может быть связана с повторяющейся последовательностью в расстановке запаховых объектов в ряду или с их постоянным нахождением в определенных точках выборочного ряда. Таким образом, существующая методика проводимых экспериментов осуществляет прямой контроль над сигнальным поведением применяемых собак-детекторов.

Результативность же применения описанных контрольных функций исследователя над условиями и ходом биологических экспериментов позволит выявить вероятностно-статистический анализ получаемых в идентификационном ольфакторном исследовании данных, которые могут характеризовать достоверность ольфакторного метода в судебной экспертизе. Применительно к исследованию биологических свойств объектов с использованием биосенсорных систем математический анализ позволит объективно выявить закономерности реализации многомерных и взаимосвязанных информационных процессов перцепции (восприятия) и условно-рефлекторной деятельности используемых биологических систем в условиях постоянного контроля их текущего функционального состояния исследователем.

Методика и ее обоснование

В 2004—2005 гг. на основе существующих методик судебной экспертизы в лаборатории исследования запаховых следов человека отдела экспертиз биологических объектов Экспертно-криминалистического центра МВД России с использованием 8 подготовленных собак-детекто-

ров были проведены 2 серии опытов, включающие в себя более 8000 отдельных экспериментов (здесь под экспериментом понимается результат попарного сопоставления искомого и дифференцируемого запаховых объектов с использованием собак-детекторов). Данные статистического исследования сигнальных реакций собак-детекторов при дифференциации следов пахучих веществ человека были получены на основе предварительно установленных критериев, отвечающих требованиям современного научно-методического обеспечения ольфакторных исследований в судебной экспертизе. Задачей проводимых экспериментов было выявить ложные сигнальные реакции (ошибки первого и второго рода) собак-детекторов, не распознанные существующими средствами контроля, применяемыми в ольфакторных исследованиях.

В первой серии из 400 опытов было получено такое же количество (400) отдельных экспериментов по сопоставлению заданного к поиску и исследуемого объекта, как пары объектов априорно содержащих в себе идентичные индивидуализирующие субъекта пахучие составляющие. При этом в 396 из 400 проведенных экспериментов исследуемые собаки-детекторы проявляли сигнальное поведение на исследуемый объект. В оставшихся четырех случаях исследуемый объект сигнальным поведением собак-детекторов не отмечался.

Во второй серии из следующих 400 опытов было получено 3600 отдельных экспериментов по дифференциации заданного к поиску объекта и других контрольных объектов сравнительного ряда как пар объектов, априорно не содержащих индивидуализирующих одного и того же субъекта пахучих составляющих. При этом в 3599 из 3600 проведенных экспериментов исследуемые собаки-детекторы не проявляли сигнальной реакции на контрольные объекты сравнительного ряда, характеризующиеся пахучими веществами, отличными по индивидуализирующим пахучим составляющим от соответствующих объектов, заданных собакам-детекторам к поиску. В одном оставшемся случае воспроизводилась ложная сигнальная реакция животного на один из вспомогательных объектов сравнительного ряда.

Данные об игнорировании отдельными собаками-детекторами запаховых объектов с искомой ольфакторной характеристикой в первой серии опытов (4 случая из 400 экспериментов по дифференциации животными пар запахов с априорно идентичным исследуемым признаком), как и данные о ложном сигнальном поведении одного из животных на запаховый объект, не содержащий искомого ольфакторного признака во второй серии опытов (1 случай из 3600 экспериментов) не воспроизводились с использованием собак-дублеров в тех же условиях ольфакторного исследования тех же запаховых объектов. «Ошибочные» реакции отдельных животных, не воспроизводимые другими собаками-детекторами при соблюденных условиях научно-методического обеспечения проводимых ольфакторных исследований, с точки зрения математической статистики дают основание считать их *случайными величинами,* обусловленными как негативными факторами в реализации условнорефлекторной деятельности, мотивационных и рецепторных принципов работы отдельно взятой биосенсорной системы, так и (в отдельных случаях) понижением концентрации исследуемых запаховых объектов вследствие их преждевременного выветривания в процессе исследования.

Обозначим число проведенных опытов $M = 400$; число экспериментов $N = 3600$ (в каждом опыте по 9 экспериментов); число ложноотрицательных реакций для первой серии опытов составило $m = 4$; число ложноположительных реакций для второй серии опытов составило $n = 1$.

Введем следующие обозначения:

P ( ) — вероятность реакции собаки-детектора на объект с априорным наличием в нем искомой ольфакторной характеристики;

Q ( ) — вероятность реакции собаки-детектора на объект, априорно не содержащий искомой ольфакторной характеристики.

Множество реакций собаки ={1; 0}, где 1 — интерпретируемый ответ «да» (наличие сигнального поведения), 0 — интерпретируемый ответ «нет» (отсутствие сигнального поведения).

Найдем доверительный интервал при доверительной вероятности 0,99 для вероятности $P(0)$, характеризующий рассеяние этой вероятности. Если последовательность проведенных опытов представить в виде схемы случайных испытаний Бернулли, а при большом числе экспериментов — в виде схемы Пуассона, то для нахождения нижнего и верхнего пределов можно использовать соответствующие формулы для распределения Пуассона:

$$L(m_{\min}) \quad \sum_{k=0}^{m-1} \frac{m_{\min}^{k} e^{-m_{\min}}}{k!} \quad \frac{1}{2}$$

и $L(m_{\max})$ $\sum_{k=0}^{m-1} \frac{m_{\max}^{k} e^{-m_{\max}}}{k!}$ $\frac{1}{2}$.

Тогда получим, что $m_{\min}$ 0,672, а $m_{\max}$ 12,594;

Значит, $\frac{0,672}{400}$ $P(0)$ $\frac{12,594}{400}$, или

0,0017 $P(0)$ 0,0315. Следовательно,

0,9685 $P(1)$ 0,9983.

Найдем доверительный интервал при доверительной вероятности 0,99 для вероятности Q (1), используя те же формулы.

Получим $n_{\min}$ 0,005 и $n_{\max}$ 7,430. Значит,

$\frac{0,005}{3600}$ $Q(1)$ $\frac{7,430}{3600}$, или 0,000001 $Q(1)$ 0,0021.

Следовательно, 0,9979 $Q(0)$ 0,999999.

Доверительные интервалы для логарифма отношения правдоподобия:

$$\log_2 \frac{0,9685}{0,0021} \quad J(1) \quad \log_2 \frac{0,9983}{0,000001}$$

и $\log_2 \frac{0,0017}{0,999999}$ $J(0)$ $\log_2 \frac{0,0315}{0,9979}$, или

8,849 $J(1)$ 19,929 и 9,200 $J(0)$ 4,985.

Обозначим $J(1)_{\min}$ 8,849, $J(0)_{\max}$ 4,985. Пусть k_1 — число ответов =1; k_0 — число ответов =0. Тогда

$J(k_1, k_0)$ k_1 $J(1)_{\min}$ k_0 $J(0)_{\max}$,

Таким образом, математическая вероятность обоснования положительного ответа об идентификации для объекта равна P $\frac{1}{1 \quad 2^{-J(k_1,k_0)}}$.

$$P(1 \quad 2^{\,J(k_1,k_0)}) \quad 1,\ 2^{\,J(k_1,k_0)} \quad \frac{1}{P} \quad 1,$$

$$\log_2 2^{\,J(k_1,k_0)} \quad \log_2 \frac{1}{P} \quad 1\ ; \quad J(k_1,k_0) \quad \log_2 \frac{1}{P} \quad 1\ ,$$

$$k_1 \quad J(1)_{\min} \quad k_0 \quad J(0)_{\max} \quad \log_2 \frac{1}{P} \quad 1\ .$$

Для доверительного предела достоверности $P > P_{пр}$ получим неравенство

$$k_1 \quad J(1)_{\min} \quad k_0 \quad J(0)_{\max} \quad \log_2 \frac{1}{P_{пр}} \quad 1\ .$$

Выразим требуемое число положительных ответов k_1 в зависимости от числа отрицательных ответов k_0:

$$k_1 \quad J(1)_{\min} \quad \log_2 \frac{1}{P_{пр}} \quad 1 \quad k_0 \quad J(0)_{\max};$$

$$k_1 \quad \frac{\log_2 \frac{1}{P_{пр}} \quad 1 \quad k_0 \quad J(0)_{\max}}{J(1)_{\min}}.$$

Тогда для достоверности $P_{пр} = 0{,}999999$ получим

$$k_1 \quad \frac{\log_2 \frac{1}{0{,}999999} \quad 1 \quad k_0 \quad (\ 4{,}985)}{8{,}849},$$

$$k_1 \quad 2{,}252 \quad k_0 \quad 0{,}563.$$

В этом случае общее число собак-детекторов, необходимое для обоснования положительного ответа об идентификации, в зависимости от числа собак-детекторов, давших воспроизводимую положительную реакцию на изучаемый объект в условиях вышеописанных опытов, равно

$s \quad k_1 \quad k_0 \quad k_1 \quad \frac{k_1 \quad 2{,}252}{0{,}563} \quad k_1 \quad 2{,}776 \quad 4{,}000.$ Отсюда

$$k_1 \quad 0{,}360 \quad s \quad 1{,}441.$$

Для достоверности $P_{пр} = 0{,}999999999$ получим:

$$k_1 \quad \frac{\log_2 \frac{1}{0{,}999999} \quad 1 \quad k_0 \quad (\ 4{,}985)}{8{,}849},$$

$$k_1 \quad 3{,}379 \quad k_0 \quad 0{,}563.$$

Тогда общее число собак-детекторов, необходимое для обоснования положительного ответа, в зависимости от числа животных, давших воспроизводимую положительную реакцию на изучаемый объект, равно

$s \quad k_1 \quad k_0 \quad k_1 \quad \frac{k_1 \quad 3{,}379}{0{,}563} \quad k_1 \quad 2{,}776 \quad 6{,}002.$ Отсюда

$$k_1 \quad 0{,}360 \quad s \quad 2{,}162.$$

Таким образом для вероятности математически обоснованного отрицательного ответа об идентификации получим

$$k_1 \quad J(1)_{\min} \quad k_0 \quad J(0)_{\max} \quad \log_2 \frac{1}{1 \quad P_{пр}} \quad 1\ .$$

Для доверительного предела достоверности $Q \quad 1 \quad P_{пр}$ получим неравенство:

$$k_1 \quad J(1)_{\min} \quad k_0 \quad J(0)_{\max} \quad \log_2 \frac{1}{1 \quad P_{пр}} \quad 1\ .$$

Выразим требуемое число отрицательных ответов k_0 в зависимости от числа положительных ответов k_1:

$$k_0 \quad J(0)_{\max} \quad \log_2 \frac{1}{1 \quad P_{пр}} \quad 1 \quad k_1 \quad J(1)_{\min};$$

$$k_0 \quad \frac{\log_2 \frac{1}{1 \quad P_{пр}} \quad 1 \quad k_1 \quad J(1)_{\min}}{J(0)_{\max}}.$$

Тогда для достоверности $P_{пр} = 0{,}999999$ получим

$$k_0 \quad \frac{\log_2 \frac{1}{1 \quad 0{,}999999} \quad 1 \quad k_1 \quad 8{,}849}{4{,}985},$$

$$k_0 \quad 3{,}998 \quad k_1 \quad 1{,}775.$$

Тогда общее число собак-детекторов, необходимое для обоснования отрицательного ответа об идентификации, в зависимости от числа собак, давших воспроизводимую положительную реакцию на изучаемый объект, равно $s \quad k_0 \quad k_1 \quad 3{,}998 \quad k_1 \quad 2{,}775.$ Отсюда

$$k_1 \quad 0{,}360 \quad s \quad 1{,}441.$$

Для достоверности $P_{пр} = 0{,}999999999$ получим:

$$k_0 \quad \frac{\log_2 \frac{1}{1 \quad 0{,}999999999} \quad 1 \quad k_1 \quad 8{,}849}{4{,}985};$$

$$k_0 \quad 5{,}997 \quad k_1 \quad 1{,}775.$$

Тогда общее число собак-детекторов, необходимое для обоснования отрицательного ответа об идентификации, в зависимости от числа собак, проявивших воспроизводимую положительную реакцию на изучаемый объект, равно

$s \quad k_0 \quad k_1 \quad 5{,}997 \quad k_1 \quad 2{,}775.$ Отсюда

$$k_1 \quad 0{,}360 \quad s \quad 2{,}162.$$

На рис. 1 показаны два графика, на каждом из которых верхняя полуплоскость соответствует положительному ответу об идентификации, нижняя полуплоскость — отрицательному ответу об идентификации, средняя полуплоскость — область неопределенных решений (для бесспорного вывода необходимо большее количество собак-детекторов).

Поясним, как происходит процесс принятия решения, например, для $P_{пр} = 0{,}999999999$ (рис. 2). Допустим из четырех собак две показали реакцию на исследуемый объект $=1$, а две другие — $=0$. Отметим соответствующую точку на графике. Точка попала в среднюю область, значит, эксперимент надо продолжить с применением других собак-детекторов. Допустим, из девяти примененных собак одна дала реакцию $=1$, а 8 других — $=0$. Отметим соответствующую точку на графике. Точка попала в нижнюю полуплоскость, значит, эксперимент надо завершить с принятием отрицательного ответа об идентификации. Допустим, из четырех собак все четыре показали реакцию $=1$. Отметим соответствующую точку на графике. Точка попала в верхнюю полуплоскость, значит, эксперимент надо завершить с принятием положительного ответа об идентификации.

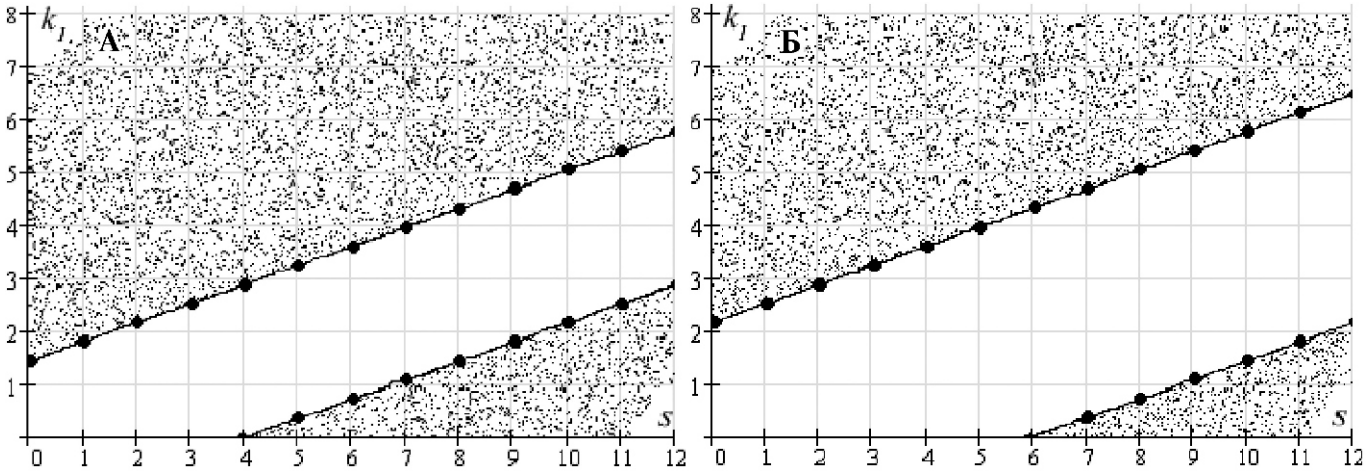


Рис. 1. Графическое представление зависимости между общим количеством собак-детекторов и количеством собак, показавших воспроизводимую положительную реакцию на изучаемый объект (для математически обоснованного ответа об идентификации); А — для $P_{пр}$ = 0,999999, Б — для $P_{пр}$ = 0,999999999

Вероятность положительного ответа об идентификации для объекта равна

$$P \quad \frac{1}{1 \quad 2^{\,J(k_1,k_0)}},$$

где $J(k_1,k_0) \quad k_1 \quad J(1)_{\min} \quad k_0 \quad J(0)_{\max}$.

Вероятности, полученные таким образом для одной собаки-детектора, показаны в табл. 1.

Таблица 1

Вероятности детекции для одной собаки-детектора

k_1 — число ответов =1	k_0 — число ответов =0	Вероятность положительного ответа	Вероятность отрицательного ответа
1	0	0,9978360622	0,0021639378
0	1	0,0306100463	0,9693899537

Соответственно, для трех собак-детекторов получим следующие вероятности (табл. 2).

Таблица 2

Вероятности детекции для трех собак-детекторов

k_1 — число ответов =1	k_0 — число ответов =0	Вероятность положительного ответа	Вероятность отрицательного ответа
3	0	0,9999999898	0,0000000102
2	1	0,9998510841	0,0001489159
1	2	0,3149629332	0,6850370668
0	3	0,0000314835	0,9999685165

Для четырех собак-детекторов получим следующие вероятности (табл. 3).

Таблица 3

Вероятности детекции для четырех собак-детекторов

k_1 — число ответов =1	k_0 — число ответов =0	Вероятность положительного ответа	Вероятность отрицательного ответа
4	0	0,99999999998	0,00000000002
3	1	0,99999967701	0,00000032299
2	2	0,99530542195	0,00469457805
1	3	0,01431037556	0,98568962444
0	4	0,00000099417	0,99999900583

Проведенный вероятностно-статистический анализ полученных опытных данных может характеризовать статистическую достоверность идентификационных ольфакторных исследований в некоторых случаях как сопоставимую с надежностью данных ДНК-анализа и превосходящую надежность традиционных криминалистических исследований в судебной экспертизе.

Так, с использованием современных методик ольфакторного исследования в судебной экспертизе, следуя данным расчетов, при ***категорическом положительном разрешении вопроса о тождестве*** по исследуемому признаку запаховых объектов, сравниваемых ***не менее чем тремя собаками-детекторами***, сигнальная реакция которых закономерно воспроизводится на изучаемый объект, вероятность получения ошибочного результата не превосходит **1,02 10^{-8}** (данные, превышающие надежность традиционных криминалистических исследований; приведенный уровень достоверности исследований оценивается экспертами английской Службы судебных наук по таблицам интерпретации отношений правдоподобия как «исключительно сильное свидетельство в поддержку гипотезы обвинения» [18, 19]). Такой уровень надежности при соблюдении всех методических требований ольфакторного исследования облада большой запас прочности, практически исключает ошибку исследования, и, на наш взгляд, ***может считаться достаточным для категорического положительного разрешения вопроса о тождестве***.

При получении тех же результатов с использованием в аналогичных условиях ***четырех собак-детекторов*** вероятность получения ошибочного результата не превосходит

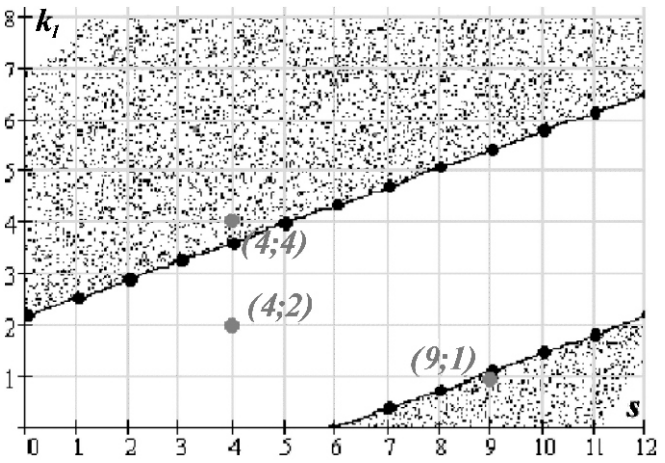


Рис. 2. Пример принятия решения для $P_{пр}$ = 0,999999999

величину **2 10^{-11}** (данные, сопоставимые с надежностью ДНК-анализа). Это позволяет оценить данную величину как «избыточный» запас прочности ольфакторного метода.

При применении в исследовании трех собак-детекторов, сигнальное поведение каждой из которых не вызывается изучаемым объектом, вероятность ошибки при категорическом отрицательном ответе об идентификации не превысит величину **3,15 10^{-5}** (с учетом опытных данных и динамики выветривания запаховых следов в процессе исследования, на наш взгляд, ***данный уровень достаточен для категорического отрицательного разрешения вопроса о тождестве***); соответственно для четырех собак-детекторов в тех же условиях и с теми же результатами ошибка не превзойдет **1 10^{-6}**.

Вероятное разрешение вопроса о тождестве (с точки зрения математической статистики — область неопределенных решений, максимально приближенных к требуемой $P_{пр}$) с доверительной надежностью 0,999999 может быть сделано с применением двух собак-детекторов, сигнальная реакция каждой из которых на изучаемый объект закономерно воспроизводится в условиях соблюдения методических принципов обеспечения ольфакторных исследований. При оценке разновариантных результатов применения группы собак-детекторов следует пользоваться вышеприведенными таблицами с требуемой доверительной надежностью.

Заключение

Подводя итог, можно сделать вывод, что исследование запаховых следов человека с использованием возможностей обонятельного анализатора и поведения собак-детекторов представляет собой биосенсорный ольфакторный метод, в котором запаховые следы человека, имеющие биологическое происхождение, исследуются в лабораторных условиях биологическими методами с применением адекватного биологического инструментария (средства) и научно обоснованных, апробированных на практике экспертных методик, позволяющих контролировать и правильно интерпретировать сигнальное поведение используемого биологического инструментария.

Эффективность выработанных принципов методического обеспечения контроля над сигнальным поведением собак-детекторов подтверждается адекватной вероятностно-статистической оценкой достоверности ольфакторного метода в судебной экспертизе, превосходящего надежность традиционных криминалистических исследований, а в некоторых случаях сопоставимого с надежностью современного ДНК-анализа.

Рассчитанное статистическое обоснование достоверности биосенсорного ольфакторного метода как существенный элемент комплексной оценки надежности результатов его использования в судебной экспертизе, будет способствовать дальнейшему развитию и совершенствованию методик судебной экспертизы запаховых следов человека.

Список литературы

1. Грин Д., Вебер Д.,. Дункан Дж. Обнаружение и распознавание чистых тонов в шуме // Сб.: Психофизика сенсорных систем. — М.: Наука, АН СССР, 1979. — С. 64—80.
2. Гриценко В.В., Обидин А.Б., Старовойтов В.И. Влияние фактора времени на образование, сохраняемость и возможность исследования запаховых следов человека: Методические рекомендации. — М.: ЭКЦ МВД России, 2000. — 40 с.
3. Забродин Ю.М., Носуленко В.Н., Пахомов А.П. Динамические аспекты процесса обнаружения // Сб.: Психофизика сенсорных систем. — М.: Наука, АН СССР, 1979. — С. 9—46.
4. Зинкевич Э.П., Бродский Е.С., Моисеева Т.Ф., Габель Ю.Б. Летучие компоненты выделений поверхности кожи человека // Сенсорные системы. — М.: Наука, 1997. — Т. 11, №1. — С. 42—52.
5. Зинкевич Э.П., Моисеева Т.Ф., Старовойтов В.И., Сулимов К.Т. Индивидуализирующие вещества в запаховых следах человека // Экспертная практика и новые методы исследования. Вып.11. — М., 1993. — С. 6—13.
6. Макарчук Н.Е., Калуев А.В. Обоняние и поведение. — К.: КСФ, 2000. — 148 с.
7. Методические и процессуальные аспекты криминалистической одорологии // Сб. науч. тр. — М.: ЭКЦ МВД России, 1992. — 89 с.
8. Моисеева Т.Ф. Комплексное исследование потожировых следов человека. — М.: ООО «Городец-издат», 2000. — 224 с.
9. Стегнова Т.В., Сулимое К.Т., Старовойтов В.И., Гриценко В.В. Установление некоторых диагностических признаков человека по запаховым следам: Методические рекомендации. — М., 1996. — 16 с.
10. Сулимов К.Т., Старовойтов В.И. Использование запаховой информации с мест происшествий в раскрытии и расследовании преступлений: Методические рекомендации. — М.: ВНИИ МВД СССР, 1989. — 48 с.
11. Панфилов П.Б. Обеспечение достоверности исследований пахучих следов человека ольфакторным методом // Актуальные проблемы теории и практики уголовного судопроизводства и криминалистики // Сб. статей: В III частях. Часть III: Вопросы теории и практики судебной экспертизы. — М.: Академия управления МВД РФ, 2004. — С. 71—72.
12. Старовойтов В.И., Моисеева Т.Ф., Сергиевский Д.А., Панфилов П.Б, Саламатин А.В. Физико-химические и биосенсорные методы в собирании пахучих следов и установлении пола человека: Методические рекомендации. — М.: ЭКЦ МВД России, 2003. — 96 с.
13. Старовойтов В.И., Сулимов К.Т., Гриценко В.В. Запаховые следы участников происшествия: обнаружение, сбор, организация исследования: Методические рекомендации. — М.: ЭКЦ МВД России, 1993. — 24 с.
14. Стегнова Т.В., Сулимов К.Т., Старовойтов В.И., Гриценко В.В. Установление некоторых диагностических признаков человека по запаховым следам: Методические рекомендации. — М.: ЭКЦ МВД России, 1996. — 16 с.
15. Старовойтов В.И., Панфилов П.Б. Кинологическая выборка и судебная экспертиза запаховых следов человека // Вестн. МВД России. — 2002, №5. — С. 45—48.
16. Сулимов К.Т., Старовойтов В.И. Использование запаховой информации с мест происшествий в раскрытии и расследовании преступлений: Методические рекомендации. — М.: ВНИИ МВД СССР, 1989. — 48 с.
17. Хананашвили М.М. Экспериментальная патология высшей нервной деятельности. — М.: Медицина, 1978. — 368 с.
18. Evett I. et al. The impact of the principles of evidence interpretation on the structure and content of statements // Science Justice. — 1998. — Vol. 40. — P. 233—239.
19. Evett I. Towards a inform framework for reporting opinions in forensic science casework // Science Justice. — 1998. — Vol. 38. — P. 193—202.

Probability-based sophisticated method to improve reliability of forensic olfactory detection by dogs

PANFILOV P.B.

Unit of olfactory detection, Forensic Center of the Ministry of Inferior Affairs, Moscow, Russia

Reliable detection of odorous traces is a key requirement in forensic analysis, where dogs are commonly used as bio-detectors. Here we report a new probability-based method allowing us to control and improve dramatically the overall reliability of such detection.

***Key words**: dogs-detectors, odorous traces, forensic analysis, reliability and probability of detection*

Алгоритм диагностики перинатальных поражений головного мозга у детей раннего возраста

СВИРСКИЙ А.В., СИДОРОВ П.И., СОЛОВЬЕВ А.Г.

Северный государственный медицинский университет, Архангельск, Россия

Представлен алгоритм использования методов нейроимиджа с целью обследования детей с перинатальными поражениями головного мозга; предложены критерии выбора диагностических методов. Рассмотрена тактика применения верифицирующих инструментальных методов в зависимости от полученных анамнестических и клинических данных, а также результатов скрининговых инструментальных исследований.

***Ключевые слова**: методы нейроимиджа, диагностический алгоритм, перинатальные поражения головного мозга, дети*

Введение

Повреждения головного мозга, возникшие во внутриутробном периоде, во время родов и в течение первого месяца жизни после рождения, относятся к группе перинатальных. Многочисленными исследованиями показано, что чем раньше диагностируются эти поражения, тем выше эффективность проводимых реабилитационных программ. Современные методы диагностики позволяют исследовать анатомическое и функциональное состояние головного мозга у детей в раннем возрасте. Методами нейровизуализации, или нейроимиджа (НИ) клиницисты выявляют морфологические изменения в центральной нервной системе и наблюдают за ними в динамике [7]. Нейросонография (НСГ) позволяет осуществлять скрининговые исследования детей раннего возраста, что способствует уменьшению числа нераспознанных перинатальных поражений головного мозга (ППГМ) [1, 2, 6]. Магнитно-резонансная (МРТ), компьютерная томография (КТ) относятся к верифицирующим методам НИ и используются для диагностики тех патологических изменений головного мозга, которые не могут быть выявлены другими инструментальными методами [3, 5].

Для дифференциальной с другими неврологическими заболеваниями диагностики ППГМ данные, полученные с помощью методов НИ, дополняются нейрофизиологическими исследованиями: электроэнцефалографией (ЭЭГ), электромиографией (ЭМГ), а также анализом зрительных/слуховых вызванных потенциалов. Благодаря вышеперечисленным диагностическим методам у педиатров появилась возможность диагностировать практически весь спектр ППГМ [8].

В ближайшее время в России станет актуальным вопрос об оптимальном использовании методов НИ и экономической целесообразности их применения, поскольку по данным статистики зарубежных стран на долю этих методов приходится около 60% финансовых затрат, связанных с обследованием неврологических больных. В связи с вышеизложенным целью настоящей работы стала разработка алгоритма комплексного оптимального использования методов НИ для упорядочивания проведения обследования детей с ППГМ.

Методические подходы и их обоснование

Под оптимальностью применения методов НИ при ППГМ мы понимаем:

- регламентированное использование показаний и противопоказаний с учетом возрастных особенностей;
- дифференцированный подход в зависимости от характера поражения мозга;
- обоснованное использование последовательности и избегание дублирования их применения;
- использование показаний для сочетания методов НИ с другими методами диагностики;
- предупреждение ухудшения состояния больного, связанного с самим проведением методов НИ.

Перед началом исследования с использованием методов РЖ каждому специалисту необходимо аргументированно ответить на 4 вопроса:

1. Нуждается ли ребенок, находящийся в специализированном отделении патологии детей раннего возраста, в диагностике:
   - характера структурных поражений головного мозга;
   - объема поражения головного мозга;
   - локализации очага поражения в головном мозге;
   - течения патологического процесса головного мозга (в отслеживании динамики и определении стадии патологического процесса)?
2. Насколько велика инвазивность метода НИ и оправдана ли она в данный момент в отношении больного?
3. Привнесут ли результаты исследования методом НИ что-либо новое в тактику ведения больного?
4. Оправдан ли выбор более дорогого верифицирующего диагностического метода НИ по сравнению со скрининговым методом?

Прежде всего педиатр и невролог должны определить, существуют ли вообще клинические данные, свидетельствующие о ППГМ.

Для этого выделяют ведущий синдром острого или восстановительного периодов согласно классификации [4].

При получении отрицательных ответов на эти вопросы лечащий врач должен организовать углубленное соматическое обследование ребенка для выявления патологии, находящейся вне сферы неврологии; при положительных ответах — происходит выбор метода НИ.

Таблица 1

Тактика использования инструментальных методов, клинических и анамнестических данных при отсутствии патологических изменений по данным НСГ

Клинические и анамнестические данные	Инструментальные методы
Высокий риск травматического повреждения головного мозга (наличие кефалогематомы, вдавленного перелома костей черепа, нарастание общемозговых и очаговых симптомов)	Проведение КТ для выявления межоболочечных кровоизлияний (субдуральных, эпидуральных или субарахноидальных)
Признаки резистентного к терапии судорожного синдрома	Проведение МРТ для выявления эктопических очагов, артерио-венозных мальформаций, арахноидальных кист или пороков развития серого вещества (микро-, пахи- или агирия)
Признаки прогрессирующего патологического процесса в задней черепной яме (мозжечковые, стволовые расстройства)	Применение МРТ для обнаружения и определение характера патологического очага
Анамнестические данные, свидетельствующие о травматичных родах и клинические проявления вялых параличей	Применение МРТ спинного мозга для выявления спинальных повреждений
Клинические признаки диффузного поражения мышц	Проведение ЭМГ

Показаниями к использованию методов НИ может быть отягощенный антенатальный анамнез с наличием факторов риска по внутриутробному инфицированию, хронической гипоксии плода, токсическому воздействию на плод, тератогенезу. При этом существующая у ребенка клиника заболевания укладывается в рамки не только соматической патологии, но и содержит один из синдромов острого или восстановительного периодов ППГМ.

Последние в сочетании с отягощенным интранатальным анамнезом с наличием в нем факторов риска по катальной травме, асфиксии, инфицированию также может быть показанием к использованию методов НИ.

Вескими аргументами в пользу существования гипоксического, геморрагического, травматического или инфекционного повреждения головного мозга считаются отягощенный постнатальный анамнез с наличием в нем сведений о клинических проявлениях синдромов острого или восстановительного периодов ППГМ. При наличии таких данных будет оправданным планирование использования методов НИ.

Информационная ценность данных, полученных с помощью верифицирующих методов НИ не должна доминировать над степенью риска, связанного с их проведением. К основным противопоказаниям использования этих методов следует отнести:

- отсутствие аппаратуры для видеонаблюдения за состоянием ребенка в период проведения МРТ, КТ;
- нетранспортабельность ребенка по тяжести состояния;
- существование высокого риска при введении седативных средств с целью обеспечения медикаментозного сна на период проведения исследования МРТ, КТ.

У детей раннего возраста использование методов НИ имеет ряд особенностей:

- верифицирующие методы НИ (МРТ, КТ) применяются только у детей, проходящих обследование и лечение в стационарах специализированных отделений и не могут быть использованы в амбулаторных условиях;
- методы НИ являются основными для диагностики ишемических, геморрагических, травматических поражений головного мозга и пороков его развития, в то же время эти методы относятся к вспомогательным для инфекционных повреждений головного мозга (менингиты, энцефалиты);
- верифицирующие методы НИ детям этого возраста проводятся только с анестезиологическим обеспечением;
- наличие в костях черепа “акустических окон” (родничков) облегчает проведение скринингового метода НИ (НСГ) и ставит его на первое место по частоте использования.

После решения вопроса о целесообразности применения методов НИ врач приступает к выбору их последовательности.

НСГ — стартовый метод исследования головного мозга у детей раннего возраста. При проведении НСГ в стандартных положениях (через большой и малый роднички в сагиттальной и фронтальной плоскостях) и в двух дополнительных (через передний боковой или клиновидный родничок и задний боковой или сосцевидный родничок в горизонтальной плоскости) принципиально могут встретиться два результата:

- патологических изменений не обнаружено — последующая тактика использования инструментальных методов будет зависеть от клинических и анамнестических данных;
- патологические изменения имеются — последующая тактика использования инструментальных методов будет зависеть от характера полученных данных НСГ.

Тактика использования инструментальных методов при наиболее распространенных результатах первой группы может быть представлена следующим образом (табл. 1).

Использование инструментальных методов после проведения НСГ и получения результатов второй группы можно рассмотреть подробнее на примере наиболее распространенных вариантов (табл. 2).

Результаты, полученные с помощью НИ, требуется сочетать с другими параклиническими исследованиями:

- ликворологические методы (общеклинический, бактериологический, серологический, иммунологический анализы) используются при:
  - наличии признаков вентрикулита по данным НСГ (утолщение стенок желудочков, спайки);
  - подозрении на субарахноидальное кровоизлияние;
  - подозрении на менингит или энцефалит.
- рентгенография черепа — при подозрении на перелом костей черепа (кефалогематома);
- ангиография — при подозрении на наличие аневризмы, сосудистой мальформации;

Таблица 2

Тактика использования инструментальных методов в зависимости от характера выявленных патологических изменений на НСГ, клинических и анамнестических данных

Результаты НСГ	Клинические и анамнестические данные	Инструментальные методы
Диффузное повышение эхогенности в белом веществе головного мозга	Нарастающие общемозговые симптомы при отсутствии анамнестических и параклинических данных, свидетельствующих об энцефалите	Проведение МРТ для исключения лейкодистрофии или лейкоэнцефалита
Локальные изменения в белом веществе или базальных ганглиях	Подозрение на гематому или петрификат	Применение КТ
	Подозрение на инфаркт или опухоль	Применение МРТ
Расширение желудочков и субарахноидальных пространств	Признаки прогрессирующей наружной, внутренней или смешанной гидроцефалии	Применение МРТ для установления уровня окклюзии или характера порока развития головного мозга, сопровождающегося гидроцефалией

Таблица 3

Критерии выбора диагностических методов в комплексном обследовании детей с ППГМ

Заболевания и синдромы	Оптимальный метод НИ	Выявляемые патологические изменения	Дополнительные нейрофизиологические методы
Травмы, сопровождающиеся дефицитарными неврологическими симптомами, которые могут сочетаться с расстройствами сознания	КТ головы КТ позвоночного столба МРТ спинного мозга	Кровоизлияния и гематомы	ЭЭГ — при расстройстве сознания
Судороги (кроме фебрильных судорог у детей раннего возраста)	НСГ — детям грудного возраста для скрининга; МРТ головного мозга	Аномалии развития различной степени тяжести, дисплазии, опухоли	ЭЭГ
Нейроинфекции (при подозрении осложнений)	МРТ	Спайки, утолщение мозговых оболочек, инфаркты, субдуральный выпот, гидроцефалия	Аудиограмма, или стволовые слуховые вызванные потенциалы
Подозрение на опухоль (соответствующая общемозговая, очаговая симптоматика), исследование в динамике	НСГ — детям грудного возраста для скрининга; МРТ	Локализация и размеры опухоли, перифокальные изменения, осложнения терапии, рецидивы	
Грубая задержка умственного развития	МРТ	Дистрофические, демиелинизирующие нарушения, мальформации	ЭЭГ при грубой задержке речевого развития
Мальформации, дебютирующие в виде судорожного синдрома	НСГ — детям грудного возраста для скрининга; МРТ	Трехмерное изображение головного мозга с детализацией строения корковых отделов	ЭЭГ
Детский церебральный паралич	НСГ — детям грудного возраста для скрининга; МРТ	Перивентрикулярная лейкомаляция, инфаркты	Вызванные потенциалы (слуховые и зрительные) при подозрении на наличие анализаторных расстройств
Дети грудного возраста с ишемически-гипоксическими повреждениями головного мозга, сопровождающиеся судорогами	НСГ — детям грудного возраста для скрининга; МРТ	Начальные признаки ишемии и инфаркта, патологические изменения в стволе	ЭЭГ
Тугоухость	КТ головы и прицельно — височной кости	Мелкие костные образования височной кости, улитка	Аудиограмма или стволовые слуховые вызванные потенциалы
Поражение спинного мозга	МРТ спинного мозга	Состояние белого и серого вещества спинного мозга и его оболочек	Соматосенсорные вызванные потенциалы
Краниофациальные мальформации	КТ	Состояние костей черепа, черепных швов	
Демиелинизирующие заболевания	МРТ головного мозга	Начальные признаки поражения белого вещества, нервных стволов	Зрительные, соматосенсорные вызванные потенциалы

• ЭЭГ — при наличии пароксизмальных состояний (судорожных и бессудорожных);

• исследование глазного дна — при наличии общемозговой симптоматики для подтверждения гипертензионного синдрома.

Результирующим итогом будет комплексное обследование ребенка, способствующее установлению правильного диагноза. Критерии выбора возможных сочетаний нейрофизиологических методов и НИ при обследовании детей с ППГМ, предложены в табл. 3.

Заключение

Таким образом, использование арсенала новых высокоинформативных нейровизуализирующих технологий способно повысить качество диагностики структурных нарушений головного мозга у детей раннего возраста. Вместе с тем, требования экономики современного здравоохранения диктуют правила выбора такого диагностического алгоритма, который должен не только обеспечить клинициста исчерпывающей и достоверной информацией в оптимальные сроки, но и позволит ему избежать необоснованного назначения дорогостоящих исследований. Накопленный опыт использования инструментальных методов при ППГМ дает возможность рационально сочетать скрининговые и верифицирующие методы нейроимиджа с нейрофизиологическими.

Список литературы

1. Гаврюшов В.В., Зубарева Е.А., Ефимов М.С. Диагностическая ценность нейросонографии у новорожденных детей // Вопр. охр. мат. дет. — 1990, №1. — С. 7—11

2. Иова А.С., Гармашов Ю.А., Андрущенко Н.В, Паутницкая Т.С. Ультрасонография в нейропедиатрии (новые возможности и перспективы). — СПб, 1997. — 160 с.

3. Барашнев Ю.А. Перинатальная неврология. — М.: Триада-Х, 2001. — 640 с.

4. Якунин Ю.А., Ямпольская Э.И., Кипнис С.Л., Сысоева И.М. Болезни нервной системы у новорожденных и детей раннего возраста. — М.: Медицина, 1979. — 280 с.

5. Barcovich A.J., Naidich T.P. Pediatric neuroradiology // Neuroimag. Clin. North. Am. — 1994. — Vol. 2. — P. 201—463.

6. Govaert P., Vries L. An Atlas of Neonatal Brain Sonography. — London, MacKeith Press, 1997. — 363 p.

7. Rivkin M.J. Hypoxic-ischemic brain injury in the term newborn. Neuropathology, clinical aspects, and neuroimaging // Clin Perinatol. — 1997. — Vol. 24. — P. 607—625.

8. Volpe J.J. Hypoxic-ischemic Encephalopathy: Clinical Aspects / Volpe J.J., ed. Neurology of the Newborn. — Philadelphia, WB Saunders. — 1995. — P. 314—369.

Algorithm of brain perinatal lesions diagnosis in children at early age

SVIRSKY A.V., SIDOROV P.I., SOLOVIEV A.G.

Northern State Medical University, Arkhangelsk, Russia

Here we outline the algorithm allowing to use methods of neuroimaging in order to examine children with brain perinatal lesions. The paper discusses the criteria of selection of diagnostic methods, and the strategy of their application to verify anamnestic and clinical data as well as results of screening instrumental research.

***Key words**: neuroimage, diagnostic algorithm, brain perinatal lesions, children*

Принципы экспериментального моделирования тревожно-депрессивного патогенеза

КАЛУЕВ А.В.

Национальный институт психического здоровья, Вашингтон, США

Экспериментальные модели тревожно-депрессивных расстройств позволяют понять природу стрессорного патогенеза человека и животных. В настоящей статье обсуждаются основные принципы и методические подходы к экспериментальному моделированию тревожно-депрессивного патогенеза.

Ключевые слова: *тревога, депрессия, стрессорный патогенез, экспериментальные модели*

Введение

Стресс, тревога и депрессия

В то время как тревожность является первой реакцией организма на стресс, патологическая тревожность — тревога — представляет собой серьезное расстройство ЦНС [45, 152, 193, 245]. По разным данным, его распространенность у населения планеты — 30—40%. Оно проявляется в виде приступов общего беспокойства на фоне гиперактивности, повышенной раздражительности и ряда вегетативных признаков стресса. Тревога — это многомерное системное заболевание ЦНС, включающее в себя когнитивный, аффективный, соматический (физиологический), поведенческий, личностный и ситуационный компоненты [20, 38, 45, 152, 194, 195, 218].

Депрессия — еще одно широко распространенное стрессорное заболевание ЦНС. По данным ВОЗ, она встречается более чем у 120 млн чел. и является четвертым по тяжести и последствиям заболеванием в мире. Ожидается, что к 2020 г. депрессия станет вторым (после ишемии) по значению заболеванием в мире. Тревога и депрессия — чрезвычайно гетерогенные и трудно диагностируемые патологии, подтипы которых взаимодействуют в рамках одной патологии и между собой как у человека, так и у животных [13, 107, 250]. Несмотря на существенные различия в симптомах, многие клинические признаки тревоги и депрессии весьма сходны. Среди всех патологий ЦНС, именно тревога и депрессия обладают наибольшей взаимной тропностью: около 60% тревожных патологий сопровождается депрессией, а 60—90% пациентов с депрессией отмечает повышенный уровень тревоги [13, 107, 192, 195, 250]. Проблема особенно усугубляется у лиц пожилого возраста (в том числе вследствие патологизации когнитивных процессов). Кроме нейрофизиологических патогенных механизмов, подобное перекрывание патогенеза имеет под собой и генетическую основу — общий генетический фактор тревоги и депрессии.

В литературе обсуждаются различные механизмы, «сопрягающие» тревожный и депрессивный компоненты ЦНС в рамках единого патогенетического процесса. Наиболее вероятным механизмом является нарушение центральных ГАМК- (-аминомасляной кислоты) и кортиколиберинергических механизмов, играющих важную роль в патогенезе как тревоги, так и депрессии [6, 13, 18, 19, 37, 50]. Дисфункции ГАМК-А рецепторов могут быть также одним из механизмов патогенеза эпилепсии, наркомании и алкоголизма, когнитивных дисфункций и др. [21, 68, 109], обеспечивая нейробиологический субстрат их высокой коморбидности с тревогой и депрессией. Сайты связывания нейростероидных гормонов на ГАМК-А рецепторах, модулирующие активность рецептора, позволяют говорить о стероидной модуляции ГАМКергической системы, подтвержденной в клинике и в экспериментальных моделях тревожности и депрессии, а также способной объяснить хорошо известные половые различия в распространенности и протекании данных расстройств ЦНС [6, 13, 22, 23, 106, 193, 194]. Весомый вклад в интегральный характер патогенеза тревоги и депрессии как в клинике, так и в экспериментальных моделях вносит центральные глутамат-, холин-, а также дофамин- и серотонинергическая системы, нарушения которых (на уровне медиаторов, рецепторов и транспортеров) кроме тревожно-депрессивного поведения могут обусловливать ряд дополнительных симптомов [32, 75, 88, 109, 200, 255].

Классификация экспериментальных моделей

Для решения важной биомедицинской задачи — изучения причин болезней человека — служат экспериментальные модели патогенеза на животных [9, 10, 57, 64, 72, 88, 102, 106, 108, 109, 141, 171, 172, 202, 251]. Экспериментальные модели оказываются чрезвычайно полезными при изучении различных патологий ЦНС, в том числе тревоги и депрессии, а также при скрининге потенциальных психотропных препаратов и факторов [41, 142, 196—198, 201, 219]. Поведение, регистрируемое в той или иной модели — так называемый поведенческий фенотип — результат сложного взаимодействия целого ряда эндогенных и экзогенных факторов, требующий адекватной постановки эксперимента и корректной интерпретации полученных данных (рис. 1) [20, 39, 78, 83, 102, 134, 160, 214, 215, 242, 244, 252, 253]. В настоящей статье обсуждаются основные принципы и методические подходы к экспериментальному моделированию тревожно-депрессивного патогенеза.

В литературе используется несколько различных классификаций существующих экспериментальных моделей.

С точки зрения ***сложности*** экспериментальные модели могут быть простыми или сложными: первые основаны на простых поведенческих тестах, не требующих сходства с патосимптоматикой у человека; вторые подразумевают функциональное сходство с патологическим поведением человека. По другой классификации [145] модели могут быть: ориентированными на несложные поведенческие ответы животных (модели I порядка); более сложными, использующими как поведенческие, так и сложные,

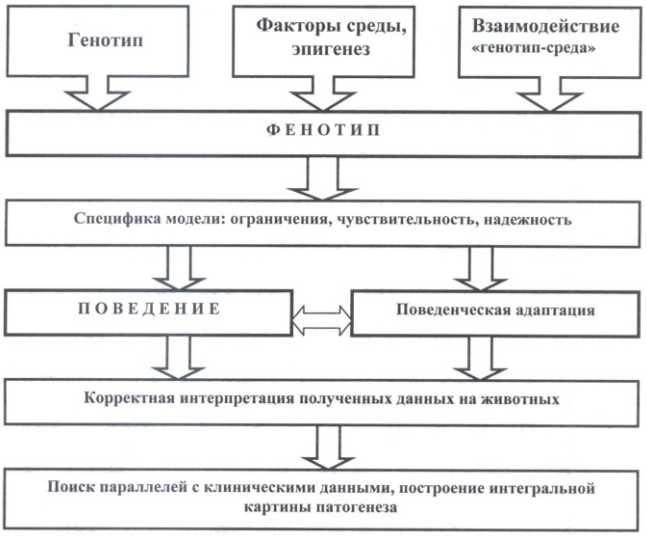


Рис. 1. Экспериментальное моделирование стрессорного патогенеза

когнитивные процессы (модели II порядка); а также комбинирующими две простые модели в более сложную (модели III порядка).

По ***временной динамике*** экспериментальные модели тревожности и депрессии могут быть:

- острыми (однократное предъявление стрессора);
- субхроническими (2—3 предъявления);
- хроническими.

По ***отношению к патогенезу*** экспериментальные модели могут быть:

- активными, т.е. индуцирующими патологию (например, при введении препаратов или на фоне генетических манипуляций);
- пассивными, т.е. измеряющими патологию (с точки зрения поведенческих и физиологических ответов).

В зависимости от ***характера моделируемых симптомов*** поведенческие модели могут быть:

- реактивными (ситуативными);
- базовыми (личностными),

соответственно моделируя либо ситуативный, либо клинически более важный (базовый) аспекты патогенеза [201].

В контексте ***онтогенеза*** модели тревожности и депрессии могут быть:

- пренатальными;
- неонатальными;
- постнатальными.

Наконец, в зависимости от ***особенностей поведенческого ответа*** [243] экспериментальные модели могут быть основаны на регистрируемых изменениях:

- исследовательского поведения;
- социального поведения,
- защитного поведения;
- условнорефлекторных поведенческих реакций (активное/пассивное избегание);
- гедонического поведения.

Кроме приведенных, имеются и другие способы классификации, например, ***по числу животных*** — в частности, модели, использующие одно или несколько животных одного вида, а также (в случае последних) — моно- и поливидовые модели. Так, например, большинство моделей, основанных на новизне, использует одно животное в тесте, тогда как модель социального взаимодействия в качестве целостной единицы одновременно анализирует поведение двух социально взаимодействующих животных одного вида [101]. В то же время, использование в эксперименте экспозиции животным особей другого вида (например, хищников [254]) является моделью поливидовой, так как в ней участвуют несколько разных видов животных.

Биологические маркеры

Использование любой модели тревожности и депрессии основано на анализе биологических маркеров патологии [145, 157]. Биологические маркеры тревожности и депрессии — это специфические изменения в организме, которые интерпретируются экспериментаторами как свидетельство состояния тревожности или депрессии животного. Наиболее часто рассматриваются поведенческие, биохимические, физиологические и генетические маркеры патогенеза ЦНС. Так, снижение исследовательской активности и сдвиг в сторону активации стереотипического поведения часто принимают в качестве поведенческих маркеров тревоги и депрессии (табл. 1), повышение уровня плазменного кортикостерона или усиление связывания бициклофосфатов ГАМК-рецепторами мозга — в качестве биохимических, а тахикардию, учащение дыхания и изменение параметров ЭЭГ — физиологических маркеров тревожности.

Экспериментальные модели депрессии (табл. 2) используются для изучения нейробиологических особенностей данной патологии, анализа антидепрессантного действия различных препаратов, и рутинного скрининга биологически активных веществ с возможным депрессотропным профилем [247—249]. Общей их особенностью является чувствительность к антидепрессантам, которые восстанавливают нормальное поведение, активируя подавленное или ингибируя вызванное условиями модели. В литературе выделяют несколько групп моделей депрессии (табл. 2).

К *первой группе* относятся так называемые стрессорные модели, основанные на:

- однократной экспозиции жесткому либо умеренному стрессору (электрошок, холодовой или иммобилизационный стресс);
- хронической аппликации группы умеренных стрессоров;
- различных других манипуляциях, приводящих к стрессу (социальные конфронтации и т.д.).

Ко *второй группе* относят модели социальной изоляции или депривации (грызуны, приматы и др.).

К *третьей группе* моделей относят так называемые импульсивные модели, основанные, в отличие от первых двух классов, на подавлении ряда импульсивных поведенческих изменений, провоцируемых в данной модели (мурицид, аносмия и т.д.) — в данном случае антидепрессанты ингибируют патологическое (агрессивное, гиперактивное) поведение (табл. 2) [84].

Среди поведенческих моделей тревожности выделяют:

1) условнорефлекторные модели (например конфликтный тест Геллера);

2) неусловнорефлекторные модели, основанные на спонтанном поведении животных (черно-белая камера, социальное взаимодействие и др.);

3) более сложные модели, построенные на сочетании и взаимодействии условнорефлекторного и спонтанного компонентов (например крестообразный приподнятый лабиринт — КПЛ) [9, 10, 141].

Таблица 1

Поведенческие маркеры тревожности и депрессии [141, 145]

Поведенческий ответ	Тревога	Депрессия
Общая двигательная активность	+	-*
Исследовательская активность	-	-
Частота груминга	+ (ч)	?
Длительность груминга	?	+
Вегетативное поведение (дефекации, уринации)	+	-?
Агрессивное поведение	+	+**
Аутоагрессивное поведение	0	+
Количество поведенческих переключений	+	-
Оценка риска	+ или -	-
Фризинг (замирание)[1]	+	+ ***
Примечание. Ч — частота; д — длительность; + — активация (усиление); — подавление; 0 — нет эффекта; ? — противоречивые данные; * — активируется в модели деольфактации бульбектомией; ** — активируется в модели мурицида при ольфактобульбектомии; *** — фризинг отражает паническое поведение (страх) при тревожности и поведенческое отчаяние (либо ингибирование всего поведения) при депрессии		

Таблица 2

Существующие экспериментальные модели депрессии и их свойства

Экспериментальные модели	Свойства
1. Фармакологические модели:	
• резерниновая проба (птоз, гипотермия, снижение локомоции, социального поведения);	Л+, Н+, С+, О+
• киндлинг (кокаин, прокаин, лидокаин, амфетамин) (снижение социального поведения и мотивации получать подкрепления);	Л+, Н+, С+, О-
• фармакологически потенцированные нефармакологические модели (кокаин- и конвульсант-потенцированный тест Порсолта, см. далее).	
2. Социальные модели (социальная дизрупция):	
• сепарация от матери, maternal separation (протест, отчаяние, неподход к вернувшейся матери);	Л-, Н+, С?, О?
• сепарация от других детенышей (Peer separation);	Л-, Н+, С?, О?
• изменение иерархии (чувствительно к серотонинергикам);	Л-, Н?, С+, О-
• субмиссивное поведение	Л+, Н?, С?, О-
3. Хронический умеренный стресс	Л-, Н-, С+, О-
4. Выученная беспомощность	Л-, Н-, С+, О+
5. Поведенческое отчаяние:	
• вынужденное плавание (тест Порсолта);	Л+, Н+, С+, О+
• подвешивание за хвост;	Л+, Н+, С+, О+
• каталепсия (иммобильность), вызванная щипком.	Л+, Н?, С+, О+
6. Условнорефлекторные модели:	
• интракраниальное само-введение веществ, стимуляция.	Л-, Н+, С? О+
7. Сенсорно-депривационные модели:	
• обонятельная депривация – аносмия, ольфактобульбектомия	Л-, Н+, С+, О-
8. Пренатальный стресс	Л-, Н?, С?, О?
Примечание. Л — легкость использования; Н — надежность; С — специфичность к действию антидепрессантов; О — чувствительность к острым (однократным) эффектам препаратов (+ — положительные характеристики; — - отрицательные характеристики; ? — нет данных или противоречивые данные)	

Еще одна классификация моделей может быть построена в зависимости от того, *активируется или подавляется* регистрируемое поведение.

Например, при моделировании панической тревожности регистрируется бегство (активируемое), а во многих других моделях — исследовательское поведение (ингибируемое) [141, 145].

Другие авторы предлагают рассматривать так называемые натуралистичные модели, условия которых максимально приближены к естественным для животного данного вида поведенческим реакциям (например социальное взаимодействие грызунов), и менее натуралистичные, так называемые «жесткие» модели (например, все конфликтные тесты) [145].

По силе стрессора (независимо от степени его натуралистичности) выделяют:

- «мягкие» модели тревожности;
- умеренные;
- «жесткие» [9, 10, 145].

В любом случае общей проблемой моделирования тревожности является то, что почти все популярные модели используют ситуации острой естественной тревожности животного в ответ на естественный анксиогенный стимул. При этом упускается из виду то, что для клиники

[1] Фризинг (freezing, замирание, затаивание) — поведенческая реакция при стрессе, характеризующаяся резко сниженной двигательной активностью животного. Возникает немедленно в качестве ответа на предъявление аверсивного стимула или сигнала, который служит условным раздражителем, ассоциированным у животного с негативным стимулом. Имеет адаптивное предназначение для защиты от хищника (визуальная или звуковая маскировка), активации сенсорных систем прислушивание и т.д.), анализа и оценки риска или выбора адекватной ситуации стратегии реагирования (борьбы или бегства).

практическую ценность имеют препараты-анксиолитики, снижающие не естественную (полезную) тревожность, а ее патологическую форму. Таким образом, с практической точки зрения (поиск новых терапевтических средств) следует уделить внимание моделям тревожности, основанным на большей степени патологизации тревожности (однако не настолько сильной, чтобы вызвать появление продепрессивных изменений поведения) [145].

Поведенческая дезадаптация — несоответствие поведенческой активности адаптивному характеру реагирования на внешние или внутренние изменения организма. Выделяют две формы дезадаптации вообще — непатологическую (в режиме усиленного, но «нормального» физиологического функционирования) и патологическую. Применяя данную классификацию к экспериментальному моделированию тревожно-депрессивного патогенеза, можно заметить, что в поведении животных наблюдаются проявления дезадаптации обоих типов. Например, повышение двигательной активности и оценки риска в случае появления опасности является примером непатологической, а аутодеструктивный груминг в случае патологической тревожности — примером патологической поведенческой дезадаптации. При депрессии преобладают патологические формы поведенческой дезадаптации.

Основные этапы становления экспериментального моделирования тревожно-депрессивного поведения

Неологические концепции тревожности

Большой вклад в изучение роли новизны в возникновении тревоги сыграли классические работы Калвина Холла (рис. 2), создателя наиболее популярного теста «открытое поле» [122, 123], на основе которых была сформулирована популярная концепция тревожности новизной у животных и человека. Согласно ей, тревожность может подавлять поведение, которое привело бы к усугублению угрожающей ситуации — например, подавлять исследовательскую активность, социальное взаимодействие, однако способствовать максимализации анализа окружающей среды — в частности повышать внимание животного и т.д. По мнению другого классика нейробиологии поведения, Джеффри Грея (рис. 2, 3) [114 — 116], за это в мозге отвечает специальная система поведенческого ингибирования (СПИ). С этой точки зрения, действие веществ-анксиолитиков объясняют инактивациией СПИ и «высвобождением» ряда заингибированных ранее поведенческих реакций, а анксиогеников — усилением СПИ (рис. 4). В эту концепцию укладывались и классические наблюдения Кея Монтгомери (рис. 5), [12], в 1950-х годах обнаружившего, что новизна окружающей среды вызывает у животных страхоподобные «тревожные» состояния (неофобию) [181 — 185]. Им было также показано, что, наоборот, при пониженном уровне тревоги животные демонстрируют гораздо больший уровень исследовательской мотивации — неофилию [206, 207].

В развитие данных воззрений Дж. Грей [114 — 116] предположил существование в мозге трех независимых мозговых систем, контролирующих поведение: Система борись — беги (в ситуации фрустрации, наказания или боли) — соответственно, вентромедиальный гипоталамус, центральное серое вещество и миндалина. Система подкрепления (система поведенческой активации, СПА) — обеспечивает аппетентные мотивационные функции, управляет активным поведением подхода к стимулу (привлечения) и противоположным ему поведением избегания: максимизирует подкрепление и минимизирует возможное наказание. По Грею, она обеспечивается прежде всего дофаминергическими механизмами вентрального тегментума, аккумбенса и вентрального стриатума и активируется положительными стимулами. Система поведенческого ингибирования (СПИ) обеспечивает аверсивную мотивацию, контролирует пассивное избегание и подавляет вследствие страха и тревоги поведенческую активацию, особенно в случаях, когда животное ожидает негативного исхода (рис. 4). По мнению Дж. Грея, СПИ обеспечивается в первую очередь дофаминергическими механизмами ядра шва и норадренергическими проекциями Locus Coreuleus. Предполагается, что СПА и СПИ находятся в реципрокных отношениях и оказывают взаимно тормозящее влияние [114—116].

Становление парадигмы тревожности

Долгое время применяемые исследователями экспериментальные поведенческие модели тревожности отличались механистичностью и большой степенью «биологической» жесткости. К таким моделям относятся разновидности условнорефлекторного избегания, впервые использованные для оценки уровня тревожности в начале 1960-х годов. При изучении тревожности у животных последних били током, подвешивали в висячем положении, подвергали другим изнуряющим воздействиям (конфликтный



Рис. 2. Классики нейробиологии тревожности — слева направо Калвин Холл (Calvin S. Hall, 1909 — 1985 гг.) и Джеффри Грей (Jeffrey A. Gray, 1934 — 2004 гг.)

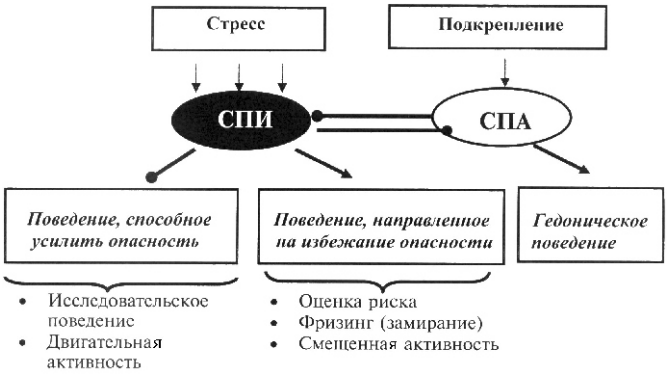


Рис. 3. Стресс и концепция поведенческого ингибирования Дж. Грея [114—116]



Рис. 4. Классики исследований в области стрессорного поведения слева направо — Кей Монтгомери (Kay C. Montgomery, 1921—1956 гг.), Чарлз Спилбергер (Charles Spielberger, 1925 г.) и Даниэл Берлин (Daniel Berlyne, 1924—1976 гг.)

тест Геллера и Фогеля, вертикальный экран-сетка и др. [9, 10]). Основной недостаток данных моделей заключается в том, что очень трудно говорить о каком-либо «поведении» животных в таких условиях, и тем более сомнительна правомочность называть провоцируемое стрессорное состояние собственно тревожностью. В настоящее время данные модели используются с известными ограничениями, однако они могут быть достаточно полезны как дополнительный «локомоторный» контроль в случаях, когда поведение (горизонтальная, двигательная активность) сильно зависит от неспецифических факторов (например малой базовой подвижности животных исследуемой линии и т.п.).

В начале 90-х годов в области нейробиологии тревожности наметилась другая, более продвинутая тенденция. Все больше авторов старалось избежать механистичности и жесткости применяемых тестов путем изучения спонтанного поведения животных в условиях умеренного стресса [2, 3, 18—21]. Чрезвычайную популярность для изучения тревожности приобретают уже известные «общеповеденческие» тесты, основанные на помещении животного в ситуацию новизны: открытого поля, норковой камеры и др. [9, 10, 74, 79—82, 145, 207], в том числе при аверсивных условиях (при усиленном освещении; в присутствии незнакомого объекта; на приподнятых платформах и т.д. [9, 10, 197, 198]), либо, наоборот, при менее аверсивных условиях [56, 134]. Постепенно приобретает популярность КПЛ, в основе которого лежат еще «эксплорационные» представления К. Монтгомери [181—185]. Именно на их основе S. Handley и S. Mitthani валидировали КПЛ и ввели его в широкую фармакоэтологическую практику [125, 126]. По-настоящему популярным КПЛ, однако, сделали убедительные работы S.E. File и R. Rodgers [95, 97—100, 209—213]. С тех пор каждый год изобретаются и валидируются самые разные модификации КПЛ — от лабиринта с прозрачными стенками до О- и Т-образных аналогов [76, 77, 80, 81, 92, 127]. Второе место после КПЛ удерживает так называемая черно-белая камера, впервые использованная J.N. Crawley в 1981 г. в работах на мышах, а затем валидированная для крыс и других грызунов [19, 64, 79—82, 86]. Кроме указанных выше, постепенно появлялись и многие другие оригинальные экспериментальные модели тревожности (например, норковая камера и ее модификации) [80, 96, 145, 197, 198]. При этом в поведении животных в различных тестах выделяют относительно небольшое число общепризнанных чувствительных показателей («традиционные», «классические» параметры тревожности), а остальные формы поведенческой активности при анализе опускаются или регистрируются в виде индексов суммарной «поведенческой неспецифики».

Социализация поведенческих моделей

Еще в начале 1980-х годах в работах S.E. File [101] для изучения уровня тревожности стали применяться модели, основанные на социальном поведении животных (социальное взаимодействие, social interaction). Важной конструктивной особенностью данной модели было то, что интегрально оценивалось поведение сразу двух взаимодействующих особей. Оказалось, что анксиолитические препараты и манипуляции усиливают социальное поведение, а анксиогеные воздействия — предсказуемо подавляют [24, 80, 186]. Данное наблюдение, будучи частным случаем СПИ Грея, привело к созданию целого ряда тестов на тревожность, основанных на оценке уровня социабельности животных.

Примерно в это же время группы Р. Адамека [31—33], К. Мичека [173—176] и В.П. Пошивалова [1, 25] начинают серьезно исследовать уровень тревожности и его влияние на проявления защитного («оборонительного») поведения, а также роль взаимосвязи тревожного и агрессивного поведения. На основе той же концепции СПИ в таких моделях использовано то обстоятельство, что в спокойном состоянии животные демонстрируют гораздо меньшую степень оборонительности своего поведения, а при тревожности защитные реакции усиливаются.

Защитное поведение (defensive response) встречается в следующих случаях: в ответ на появление хищника, агрессивной особи своего вида, в стрессорной ситуации и/или при появлении опасного объекта [36]. С точки зрения тревожности это — видоспецифичное поведение, которое активируется при повышении уровня страха или тревожности животного, а его ингибирование может отражать степень анксиолизиса. Защитное поведение подразделяют на:

- активную защиту (вокализация, боксирование, укусы);
- пассивную защиту (затаивание);
- бегство (в том числе прыжки).

Стратегия защитного поведения зависит от генетической предрасположеноости к активно- или пассивно-оборонительному поведению и от средовых факторов, основными из которых считаются:

1) возможность избежать столкновения;
2) расстояние до угрожающего объекта;
3) интенсивность угрожающих сигналов.

Считается, что предрасположенность как к активному, так и пассивному защитному поведению коррелирует с большей выраженностью тревожности и страха у животного. В начале 1990-х годов «защитные» индексы тревожности, — в первую очередь ультразвуковая вокализация и реакция «вызванного» испуга [87] — становятся весьма популярными и активно используются в нейробиологических исследованиях.

Аналогично в работах групп Р. Бланчарда и С. Файл [58—61] активно исследуются защитные тревожные поведенческие реакции, связанные с экспозицией хищника (или его запаха) — сильного стрессора, основанного на врожденной (innate) тревоге у животных, развивающейся к определенной категории объектов (змеи, хищники, для мышей — крысы, и т.д.; табл. 3), [23, 36, 254, 257].

Все эти работы свидетельствуют о гетерогенности самой природы моделируемой тревожности и существова-

Таблица 3

Факторы возникновения тревожности [114—116]

Факторы	Потенциал для моделирования тревоги:	
	ситуативной	базовой
Новизна среды	++++	+
Отсутствие ожидаемого подкрепления	++	++
Наказание	+	++
Естественные хищники	+	++++

нии различных ее разновидностей не только на нейрохимическом и физиологическом, но и на поведенческом уровне (табл. 3), [18—21]. Особо отметим, что подобные подходы также находят широкое применение при моделировании депрессии (табл. 1), где в качестве стрессорных факторов используют отделение детенышей от матери или других детенышей, а также изменение социальной иерархии (модель резидент — интрудер) [84].

Фармакологические модели

Психофармакологам довольно давно было известно, что целый ряд анксиолитиков обладает еще одним эффектом — выраженным противосудорожным действием. На основе этих наблюдений хемоконвульсанты были введены в практику фармакоэтологических исследований как препараты, при использовании которых можно не только изучать судороги, но и косвенно оценивать уровень тревожности у животных. Исследование хемоиндуцированной каталепсии внесло свой вклад в развитие различных фармакологических моделей тревожности у животных. Важным моментом стали также попытки сконструировать нейрохимическую мозаику тревожности [18—21] и выявить корреляции ее составляющих с поведением животных в тех или иных моделях. Перспективным направлением исследований на стыке фармакологии и генетики стресса стали также фармакогенетические подходы, активно развиваемые в России и за рубежом [26—30].

Этологические модели

Примерно 10—15 лет назад критики применения «жестких» моделей стресса стали снижать уровень стрессорности ситуаций, в которые помещались животные, а также указывали на необходимость существенного расширения диапазона исследуемого поведения путем включения в него целого ряда паттернов, ранее упущенных из виду (так называемые этологические производные) [68, 137—139]. В частности, отмечалась необходимость:

1) этологической адекватности для выявления эмоциональных состояний страха и тревоги;

2) исключения грубых инструментальных воздействий;

3) исключения провоцирования сильных конкурентных мотиваций;

4) легкой воспроизводимости теста;

5) получения ответа немедленно по окончании теста [16].

В контексте этологизации существующих моделей стресса в середине 1990-х годов становится очень популярной точка зрения, что тревожность (особенно у высших позвоночных, например приматов) можно адекватно оценивать по уровню смещенной активности (которая усиливается при стрессе, в том числе при тревожности) [4, 5]. В этом же ключе следует рассматривать груминг — еще одну поведенческую реакцию, которая при стрессе активируется [143, 144]. Лишь позже пришло понимание того, что:

1) эта реакция при тревожности характерна далеко не для всех животных;

2) в комфортных условиях груминг также активируется;

3) по своей микроструктуре груминг гетерогенен [54, 55] и по-разному изменяется в зависимости от силы стресса и природы факторов, вызывающих тревожность [9—11, 93, 94, 143, 144, 146—148].

Более того, недавние детальные поведенческие исследования груминга показали существенные генетические различия в данном поведении. Его представленность, выраженность и поведенческая микроструктура (паттернирование) не только не всегда линейно коррелируют с уровнем тревожности, но и представляют собой результат сложного взаимодействия с другими поведенческими доменами животных и их видо- и линие-специфических поведенческих характеристик: агрессии, манипуляционной активности и других [11, 143—145]. В настоящее время созданы подробные протоколы для исследования груминга при стрессе, экспериментально валидированные для крыс и мышей [143—148] и используемые в ряде лабораторий России, Украины, Армении, Финляндии, Германии, Франции и США.

Последовательностный (микроструктурный) анализ поведения представляет собой еще один методологически чрезвычайно важный подход к изучению поведения, при котором регистрируются не столько количество тех или иных актов, сколько их последовательности (например число переключений между позами; виды переключений между определенными категориями поведения) — так называемые секвенции (последовательности взаимосвязанных элементов поведения: поз и движений) [146, 148]. Данный подход основывается на классических представлениях К. Лоренца [168] об организации поведения животных. Очень часто слабые или умеренные анксио- или депрессотропные эффекты не проявляются в изменении количественных показателей поведения, однако приводят к заметным качественным изменениям — сдвигам в секвенциях. В подобной ситуации фармакологический скрининг с применением последовательного анализа является более правильным и корректным, чем чисто количественный анализ (к сожалению, более распространенному в современной фармакоэтологии). По мнению М.А. Дерягиной и М.Л. Бутовской [4, 5], данный подход представляет наиболее важный уровень его изучения, позволяющий понять глубинные механизмы и закономерности, в том числе при моделировании как тревожного, так и депрессивного поведения животных.

С точки зрения этологизации поведенческих моделей интерес вызывают некоторые оригинальные методики стресса, основанные на отдельных видоспецифичных реакциях животных, например «зеркальная камера» [72, 153, 158], модель tail swinging [230], внезапная темнота [56, 188, 189] и ряд других. Несмотря на трудности интер-

претации поведения в ряде таких тестов, использование их в биомедицинских исследованиях может быть эффективным, поскольку в них поведенческие реакции чувствительны к различным стресс-тропным воздействиям[3].

Спонтанные «атипические» поведенческие реакции

Спонтанные «атипические» поведенческие реакции (АПР) представлены гетерогенной группой поведенческих паттернов, которые редко (<5%) встречаются во всех поведенческих моделях стресса. АПР отличают низкая спонтанная частота, явное несоответствие поведения ситуации и повышение вероятности при стрессе или различных нарушениях ЦНС. Низкая частота и гетерогенность АПР, контролируемых различными нейромедиаторными системами, затрудняют их анализ и интерпретацию [188, 189]. Однако в ряде случаев АПР могут быть важными маркерами стресса и свидетельствовать о серьезных поведенческих и неврологических нарушениях. Наиболее часто встречающиеся АПР: зевания (с потягиванием или без него), аномальный груминг, чесание вне груминга, спонтанная вокализация, жевание вибриссов, манипуляции с дефекационными болюсами, игра с хвостом, tail rattling и другие. Аномальный груминг — важный маркерный АПР, отличающийся от обычного тем, что проявляется в поведенческих моделях и ситуациях, когда груминг физически затруднен в силу специфики стресса, применяемого в модели тревожности или депрессии. Так, грумингподобные сверхкороткие движения передними лапами в периоральной области наблюдается у крыс и мышей при плавании в тесте Порсолта, а до 10% мышей, нокаутных по гену VDR, могут продемонстрировать аномальный груминг передними лапами, вися на «вертикальном экране», удерживаясь задними лапами за сетку.

К АПР можно также отнести специфический сверхкороткий аутогруминг в положении стоя (вытянувшись), который редко (1—5%) встречается среди крыс и мышей в поведенческих тестах и совершенно не соответствует обычному грумингу. Аномальный груминг проявляется у мутантных мышей в тесте «горизонтальный шест», когда животные испытывают существенные сложности с удержанием и балансированием на шесте (А.В. Калуев, неопубл. данные). АПР являются патологической формой смещенной активности, активируемой стрессом, и поэтому имеют потенциальную ценность при анализе действия стресса или фармакологических препаратов. Для оптимизации регистрации и анализа АПР существует несколько подходов: генетический, фармакологический и нейрофизиологический. Их альтернативой являются этологические методы — кумулятивная регистрация при многократном повторном тестировании животных или использовании батарей поведенческих тестов. Кумуляция АПР с использованием батареи тестов имеет несомненные преимущества по сравнению с другими методами, поскольку не требует дополнительных усилий и манипуляций. При тестировании для каждой группы животных регистрируются все АПР в тесте 1, затем все АПР в тесте 2 и т.д.

Модели «базовой — ситуативной» и «острой — патологической» тревожности

По классической теории Ч. Спилбергера [221, 222] (рис. 4), в поведении человека и животного всегда присутствуют две категории тревожности — базовая (trait) и ситуативная (state). Первая является константной врожденной характеристикой организма, а вторая зависит от конкретной ситуации и меняется соответственно степени стрессорности окружающей среды [49, 245]. Многие существующие поведенческие модели стресса основаны на изучении ситуативной тревожности [34]. Тем не менее, высокая базовая тревожность часто бывает причиной развития патологического состояния — тревоги, поскольку чрезмерно часто индуцируемая ситуативная тревожность приводит к тревожности хронической. Понимание гетерогенности моделируемой тревожности у животных приводит исследователей к осознанию того, что большинство из применяемых моделей использует острый однократный стресс (КПЛ, черно-белая камера и т.д.), позволяющий моделировать острую (ситуативную), а не базовую тревожность. Моделирование последней, однако, представляет наибольший интерес с точки зрения применения результатов модели к тревожной психопатологии человека [41, 46—49, 71, 75]. Поэтому появление качественно иных поведенческих моделей тревоги, основанных на моделировании ее базовой, патологической составляющей стало важным и перспективным направлением нейробиологии тревожности. Примерами таких моделей могут служить ампутация вибрисс (девибриссация) у крыс [15], тест агонистических конфронтаций «перегородка» у мышей [17, 154—156], а также модели хронического умеренного стресса, хронической экспозиции запаха хищника и другие. Разработка подобных моделей фактически является шагом к последующей тенденции к «гибридизации» поведенческих моделей стресса.

Модели, не основанные на «вынужденной» новизне

Еще в 1950-х годах Д. Берлин (рис. 4) указал на то, что поведение в вынужденной ситуации новизны отличается от поведения животного в ситуации, когда у него есть выбор, исследовать новое, или нет [50—53]. К сожалению, эти идеи на десятки лет были проигнорированы нейробиологами. Важный этап в нейробиологии тревожного поведения был ознаменован появлением в 1990-х годах работ группы Грибела и Фогеля [119—121], которые обратили внимание исследователей на то, что поведение животных в ситуации вынужденной новизны может позволить анализировать ситуативную, нежели базовую разновидности тревожности. Такие подходы помогли разработать целый ряд моделей, основанных на свободном выборе животным исследования новизны либо знакомого пространства (неофилия бывает выше у нетревожных животных) [46—49].

Интеграционные подходы

За последние 10—20 лет достаточно часто высказывается мнение о необходимости оценивать тревожность в комплексе, т.е. сразу по всем регистрируемым параметрам одновременно, а не по измерению выбранных «ключевых». Своеобразным вариантом количественных методик регистрации можно назвать так называемый метод построения этограмм [1, 9, 25]. В ряде отечественных и зарубежных лабораторий данный метод успешно и интенсивно используется на протяжении последних лет. В данном случае речь идет о получении интегрированной картины, отражающей не отдельные «тревожные» показатели, а изменение их в комплексе (и, что особенно важно, на фоне изменения других поведенческих показателей, не

[3] см. также о возможном компульсивном компоненте иследовательского поведения [167]

несущих «тревожную» нагрузку). На наш взгляд, аналогичный подход вполне может быть использован и для качественных (последовательностных) показателей поведения. Например, при введении показателя частотной изменчивости для каждой из регистрируемых поведенческих реакций можно будет построить аналогичную круговую этограмму, в основе которой будут не количественные показатели, а их последовательностные характеристики. Иными словами, подобный метод может позволить интегрировать количественные и качественные подходы к изучению тревожного животного.

Еще одним способом интегрировать результаты исследований в единую картину можно считать подходы, в которых предлагается использовать для оценки тревожности батарею тестов, в каждом из которых выраженность тревожности оценивается в баллах. Сумма баллов по всем моделям дает в итоге формализованную, т.е. выраженную в числах, интегрированную, оценку состояния тревожности.

Нелинейность тревожного поведения

Тревожное поведение справедливо связывается с возбуждающими процессами ЦНС, состоянием физиологического arousal. В 1995 г. двумя группами в Бристоле и Лидсе был обнаружен феномен анксиолитичности малых доз некоторых ГАМК-литических препаратов (коразол, пенициллин), до этого известных как классические анксиогены. Это позволило сформулировать представления о сложном, нелинейном характере зависимости тревожного поведения от уровня arousal ЦНС [7—10, 211]. Было предположено, что умеренное возбуждение ЦНС провоцирует эмоционально-положительные состояния (так называемые pleasurable emotions), которые приводят к неожиданному снижению тревожности до тех пор, пока растущий arousal не становится анксиогенным [7—10, 211]. Понимание этого феномена позволит нейробиологам более корректно интерпретировать поведение животных, регистрируемых в используемых ими поведенческих моделях.

«Гибридизация» поведенческих моделей

Тревожное и депрессивное поведение в экспериментальных животных моделях можно изучать не только как самостоятельный феномен, но и в привязке к другим процессам и разновидностям поведения. Например, интересно исследовать взаимоотношения тревожности и аппетентного поведения, тревожности и агонистического поведения и т.д. Решению этой задачи удовлетворяют появившиеся недавно модели, в которых одновременно можно оценивать уровень тревожности и показатели иного исследуемого поведения, к тревожности не относящегося (например, уровень памяти, аппетентности, агонистичности и т.д.). Примеры таких моделей — приподнятый Т-лабиринт для одновременного исследования памяти и тревоги, открытое «питьевое» поле для оценки тревожности и аппетентного поведения и другие [117, 8, 238].

Сказанное выше позволяет заключить, что дальнейшая гибридизация поведенческих моделей [9, 10, 12] представляет собой крайне перспективный путь в нейробиологии тревожности. Об этом свидетельствуют и недавние работы с крысами линии Wistar—Kyoto [227], демонстрирующие одновременно продепрессивное и протревожное поведение, что позволяет рассматривать данную линию крыс как удачную генетическую «гибридную» модель тревожно-депрессивного поведения, которая может позволить исследователю моделировать комплексный и перекрывающийся характер патогенеза. Аналогичные синергичные результаты могут наблюдаться и у ряда линий мутантных мышей: одновременное снижение тревоги и депрессивности у мышей, нокаутных по гену рецепторов нейрокинина и вазопрессина. Ряд других примеров (в том числе синергичного усиления тревоги и депрессии), приведенных в табл. 4, демонстрирует, что создание мутантных линий животных может рассматриваться как еще один шаг в направлении моделирования общих механизмов патогенеза тревоги и депрессии.

Важно, что тревожный и депрессивный домены поведения могут быть разделены, и, например, повышение депрессии может отмечаться на фоне снижения тревоги либо ее отсутствия (табл. 4). На наш взгляд, подобные «патоспецифические» модели также представляют особый интерес в нейробиологии стрессорного поведения, поскольку при необходимости позволяют отследить как изменение каждого их двух данных патогенетических факторов в отдельности, так и вклад каждого из них в интегральную картину патогенеза [131].

Транзиторные модели

Транзиторные модели — логическое продолжение гибридизационных подходов, и позволяют моделировать две разные, но патогенетически связанные патологии, например тревогу и депрессию. Взаимосвязь тревожности и депрессии на сегодняшний день хорошо изучена и описывается основным патогенетическим вектором: острый стресс тревога хроническая тревога депрессия. Однако вопрос, где заканчивается тревога и начинается депрессия, по-прежнему остается открытым для специалистов в данной области. К сожалению, данную проблему невозможно решить повышением «качества» (валидности, чувствительности и т.д.) существующих моделей тре-

Таблица 4

Тревожное и депрессивное поведение мутантных и трансгенных мышей (по [232], с изменениями)

Линии мышей	Тревожное поведение	Депрессивное поведение		Активация ГГС
		Отчаяние	Ангедония	
СерТ (нокаут)	+	-	+	+
2 АР (нокаут)	+	+	?	?
2 АР (нок-ин)	0	+	?	+
КЛ (сверх-экспрессия)	+	0	?	+
КЛ (нокаут)	0	?	?	-
КЛР1 (нокаут)	-	?	?	-
КЛР2 (нокаут)	+	+	?	+

Примечание. ГГС — гипоталамо-гипофизарная система; СерТ — серотониновый транспортер; АР — адренорецептор; КЛ — кортиколибенин; КЛР — рецепторы КЛ (1,2); + — активация; — ингибирование; 0 — нет эффектов; ? — нет данных

воги или депрессии. Следовательно, возникает необходимость в качественно ином подходе, которым может быть использование так называемых транзиторных экспериментальных моделей, которые на начальном этапе служат тестами на тревожность, а при более длительном применении становятся моделями депрессии [9, 10, 12]. Удачным примером транзиторной модели тревожности и депрессии у грызунов является периферическая аносмия. У этих макросматиков она на ранних стадиях (7 дней) вызывает анксиогенез, а при более длительном применении (3—4 недели) известна как модель депрессии [22, 23]. Транзиторные модели, разумеется, далеко не обязательно должны быть связаны с сенсорной депривацией. Однако удачное сочетание, с одной стороны, первичного анксиогенного фактора (резкий скачок неопределенности окружающей среды вследствие неожиданного сенсорного блока), и, с другой, вторичных ангедонических продепрессантных последствий длительной сенсорной депривации позволяет полагать, что именно манипуляции с сенсорными системами (а также депривация сразу нескольких анализаторов) могут дать целое семейство интересных транзиторных методик. Определенным потенциалом «транзиторности», на наш взгляд, обладает также семейство зоосоциальных «конфронтационных» моделей, также являющихся анксиогенными вначале и продепрессивными при более длительных сроках. Они активно разрабатываются в лаборатории Н.Н. Кудрявцевой [17, 43] в Новосибирске. Сюда также можно отнести комбинацию сенсорно-депривационных и зоосоциальных факторов. Теоретически возможны и другие семейства транзиторных моделей (например, ангедонические модели депрессии, вызванные хроническим стрессом [224—226], при которых на ранней стадии возникают тревожноподобные изменения в поведении). Несомненно, что с их помощью можно будет приступить к решению еще одной важной задачи нейробиологии стресса — пониманию общих нейробиологических механизмов, происходящих в мозге собственно в период «перехода» тревожности в депрессию.

Суок-тест и вестибулярные дисфункции

Целый ряд нейроэтологических теорий описывает поведение животных в условиях новизны [46—49, 243]. В основополагающих работах Монтгомери [181—185] постулируется ведущая роль баланса мотиваций — стремления исследовать новизну (неофилии) и страха перед ней (неофобии, тревоги) — в формировании поведения животного в данных условиях [79—82]. Большинство моделей тревоги ориентированы на исследование таких поведенческих доменов, как локомоторная активность, исследовательская активность и оценка риска. Тем не менее, необходимо постоянно усовершенствовать и обновлять имеющийся арсенал поведенческих моделей стресса [219][4]. Существующие модели должны базироваться на различных поведенческих аспектах стрессорного поведения и иметь различную зоопсихологическую основу, поскольку только в таком случае возможен всесторонний скрининг и корректный анализ поведенческих данных.

На основе этого недавно была разработана принципиально новая поведенческая модель тревоги у мышей и крыс — Суок тест (Suok test) и его черно-белая модификация (ЧБСТ) [14, 149, 150]; (рис. 5). Уникальная особенность данного теста в том, что он представляет собой «гибрид» одновременно нескольких традиционных моделей. Так, приподнятость Суок-теста воспроизводит элементы КПЛ, используя высоту как один из анксиогенных факторов в данной модели. С другой стороны, аллея или шест (рис. 5) представляют собой открытую незнакомую арену, воспроизводя ситуацию открытого поля. Способность Суок-теста параллельно оценивать вестибуло-моторные функции у крыс и мышей (по количеству падений и числу соскальзываний задних лап) фактически приближает данную модель к вращающемуся или неподвижному ротароду — традиционному тесту для оценки моторных функций у крыс и мышей [79—82]. Таким образом, можно справедли-

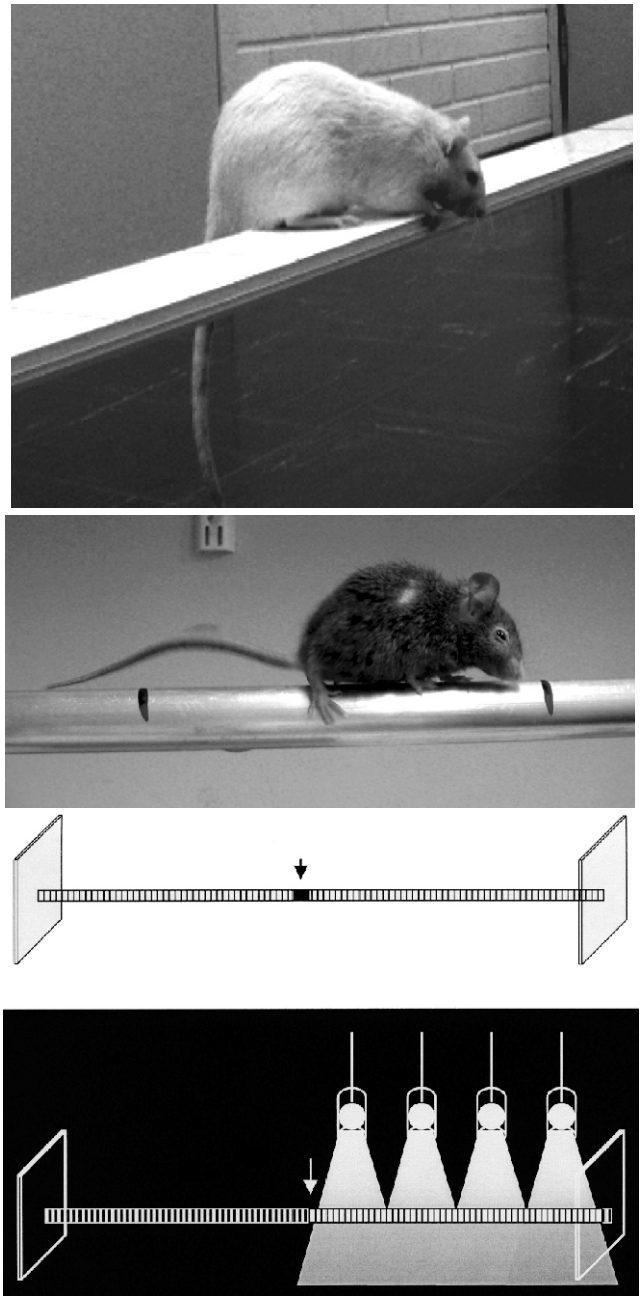


Рис. 5. Суок-тест для тестирования на лабораторных грызунах; внизу – черно-белая модификация теста (мыши)

[4] см. также детали в: Cryan J.F., Holmes A. The ascent of mouse: advances in modeling humandepression and anxiety // Nat. Rev. Drug Discov. - 2005. - Vol. 4. - P. 775-790.

во утверждать, что Суок-тест является гибридом трех наиболее популярных поведенческих тестов — открытого поля, КПЛ и ротарода. Наконец, следует отметить, что ЧБСТ воспроизводит ситуацию, моделируемую в традиционном тесте «черно-белая камера», а следовательно позволяет гибридизовать сразу четыре основные поведенческие модели тревожности в рамках единого теста [14, 149, 150].

Второй важной поведенческой особенностью Суок-теста является то, что данный метод позволяет одновременно регистрировать несколько специфических поведенческих доменов, что ранее было принципиально невозможно с использованием имеющихся традиционных моделей. Так, например, открытое поле (в силу стабильности арены) не позволяет напрямую оценивать мотовестибулярные дисфункции, а «мотовестибулярный» тест ротарод не используется для оценки исследовательской активности и тревоги [46—49, 216]. Применение Суок-теста и ЧБСТ позволяет анализировать эти два важных поведенческих домена одновременно в ходе несложного и непродолжительного эксперимента [14, 150].

Кроме того, в последнее время внимание исследователей привлек феномен стресс-индуцированной мотосенсорной дезинтеграции (СИМД). Данный феномен широко известен в клинике и выражается в том, что повышенная тревога сопровождается более частыми мотосенсорными и вестибулярными дисфункциями пациентов [91, 161, 162, 177, 237]. Достоверная корреляция между уровнем тревоги и нарушениями равновесия была также показана и у нормальных испытуемых [199, 241]. Высокая коморбидность стрессорных расстройств ЦНС (особенно тревоги и депрессии) и мото-вестибулярных дисфункций представляет собой важную самостоятельную проблему в медицине [62, 177], требующую новых экспериментальных подходов к ее решению.

Недавно было убедительно продемонстрировано существование СИМД у грызунов [161, 162]. Данный феномен отражает еще один, третий, важный поведенческий домен, заслуживающий внимания при поведенческом тестировании в экспериментальных моделях стресса, однако часто игнорируемый на практике. Существует два возможных экспериментальных подхода к данной проблеме. Во-первых, можно анализировать мотовестибулярные функции у животных с ранее известным уровнем тревоги. Во-вторых, можно анализировать уровень тревожного поведения у животных, у которых ранее были обнаружены мотовестибулярные дисфункции. В любом случае, данные подходы требуют проведения нескольких различных поведенческих тестов, которые не только усложняют тестирование, но и сами по себе (за счет кумулятивного стрессорного эффекта батареи тестов) могут повлиять на полученные результаты. Использование Суок-теста и его модификаций позволяет обойти данные методические затруднения, одновременно оценивая тревожность и вестибулярные функции животных в одном тесте [14, 150]. В настоящее время Суок-тест успешно используется для исследований на крысах и мышах в ряде лабораторий мира, в том числе в России, Украине, Финляндии, Германии, Ирландии и США.

Развитие поведенческих моделей депрессии

Нейропсихологические теории депрессии рассматривают в качестве одного из патогенных факторов нарушение обработки и восприятия когнитивной информации, приводящее к тому, что различные события воспринимаются более негативно, чем на самом деле [240]. Это приводит к ощущению потери контроля над ситуацией или отчаяния (выученной беспомощности). С учетом этого, стресс традиционно используют для индукции депрессивно-подобных состояний у животных [239]. Важный вклад в данную область был сделан J.B. Seligman и M.E. Overmier (1967 г.), которые использовали электрический ток как непредсказуемый (неконтролируемый животными) острый стрессор в течение 40—60 мин, что приводило к развитию депрессивноподобного поведения (выученной беспомощности, learned helplessness) у 10—20% крыс. Данная модель чувствительна к широкому спектру антидепрессантов [9, 10, 145].

В 1977 г. P. Порсолт предложил принципиально новый подход к моделированию депрессии — тест вынужденного плавания (forced swim test) [203—205], получивший самое широкое применение при анализе поведенческих эффектов препаратов [247—249]. Тест основан на наблюдении, что крысы, вынужденные длительно плавать в ситуации, когда возможность выбраться из воды отсутствует, после начального периода активных попыток обычно резко снижают свою активность до минимума, необходимого для удержания головы на поверхности [203—205]. При этом стадия иммобильности, или «зависания», интерпретируется как проявление «отчаяния», латентность и суммарная длительность которого могут быть чувствительными к действию введенных препаратов [247—249]. Так, практически все использованные антидепрессанты приводили к снижению иммобильности у экспериментальных животных [203—205]. Важно отметить, что отсутствие в модели возможности избежать опасность соответствует общепринятой классификации стрессовых состояний, отражая именно состояние депрессии и отчаяния. Тем не менее, рядом авторов отмечается объективное перекрывание в механизмах и многих симптомах тревоги и депрессии [9, 10, 157], что находит свое отражение в поведенческих эффектах анксиотропных препаратов в данном тесте. Кроме того, показана положительная корреляция между снижением уровня депрессивности в данном тесте и некоторыми показателями пониженной тревожности в других традиционных моделях (например повышением числа стоек в открытом поле). Это позволяет заключить, что, несмотря на большую ценность данной модели как несложного, достаточно специфического и очень надежного теста «депрессии», следует более детально исследовать ее потенциал как модели, которая может быть чувствительна к тревожным механизмам патогенеза ЦНС, например затрагивая тот домен депрессии, который «отвечает» за сопряжение тревожно-депрессивного патогенеза. В настоящее время существует целый ряд различных модификаций данного теста, в том числе основанные на автоматизированной регистрации поведения животных и анализе их поведенческой микроструктуры.

Разработанный в 1985 г. тест «подвешивание за хвост» (tail suspension test) является еще одной популярной экспериментальной моделью депрессии [223]. Данный тест конструктивно близок к тесту Порсолта и основан на наблюдении, что грызуны при их подвешивании за хвост будут демонстрировать определенный период иммобильности, по латентности которого можно судить об уровне их депрессивности [80, 166]. Различные препараты приводят к изменениям длительности иммобильности животных, причем данный тест не только прост и удобен технически, но и более чувствителен к ряду психотропных препаратов, чем тест Порсолта, поскольку позволяет минимизировать

«гипотермический» фактор последнего при влиянии на поведение, а также ряд других неспецифических аспектов (например, феномен ригидности конечностей при плавании мышей линии 129). Недавние психогенетические исследования показали чувствительность многих инбредных линий мышей к данному тесту, а также зависимость эффективности действия препаратов от генотипа животных [44, 65, 166]. Все это в целом подтверждает большую ценность данной модели при исследовании нейрофизиологических, фармакологических и генетических аспектов депрессивного патогенеза. Однако, как и в случае теста Порсолта, ряд анксиотропных препаратов также оказывается эффективен в данном тесте [9, 10, 13, 69]. Данное обстоятельство указывает на необходимость изучения возможного потенциала данной модели как модели тревожно-депрессивного патогенеза. В то же время, не следует рассматривать данную модель как «сухую версию» теста Порсолта, поскольку спектр эффективных препаратов в обеих моделях различается, указывая на то, что в данных двух тестах создаются гетерогенные стрессорные состояния, которые, по-видимому, характеризуются различными нейрофизиологическими и нейрохимическими изменениями [44]. Сравнительный анализ генетических маркеров (локусов) в двух данных тестах [256] также демонстрирует сходство, но не идентичность локусов поведения иммобильности в данных моделях. Неодинаковая базовая активность мышей разных линий в данных тестах, а также генетические различия по чувствительности к антидепрессантам в данных моделях также свидетельствуют в пользу существования нейробиологических различий между двумя данными поведенческими моделями депрессии [65, 66, 80, 85, 166].

Модель ольфактобульбектомии, разработанная J.P. Kelly [151], является интересной альтернативой другим моделям депрессии [234]. Она основана на хирургическом удалении обонятельных луковиц, и чувствительна антидепрессантам, вводимым хронически начиная с 3-й недели после операции [85]. Характерные поведенческие изменения в данной модели, купируемые антидепрессантами, включают: гиперлокомоцию в открытом поле, дефицит в формировании условнорефлекторного избегания и пространственной памяти, снижение либидо, нарушение пищевой мотивации, а также повышенную агрессию (в том числе каннибализм) и аутоагрессию [22, 23, 151, 220]. Нейробиологические изменения в ЦНС при ольфактобульбектомии включают снижение уровня норадреналина и серотонина, повышение плотности - и -адренорецепторов, а также 5-НТ2 серотониновых рецепторов, снижение плотности М-холинорецепторов, повышение плотности ГАМК-А и ГАМК-Б рецепторов и усиление экспрессии нейропептида У [132, 133, 151, 234].

Модель хронического стресса была предложена P. Willner [247—249] в качестве «ангедонической» модели депрессии [40], и основана на точке зрения, что именно ангедония — отказ от положительных эмоций и/или сниженная способность их испытывать, — является одним из основных патогенезических механизмов депрессии (см. дискуссию в [35]). Ангедонические модели депрессии основываются на ранних работах, в которых применялся жесткий стресс (плавание в холодной воде, иммобилизация, электрошок). В их развитие, Willner предложил использовать менее жесткий («умеренный»), но более длительный (до 3 мес.) хронический стресс [247—249]. Важной методологической особенностью данной модели является чередование стрессорных факторов (освещение, частая смена вносимых в клетку новых объектов и др.), применяемое с целью снижения возможной адаптации животного к стрессорным условиям. В качестве стрессора могут выступать различные повторяющиеся и чередующиеся воздействия, в том числе даже такие как инъекции физраствора и хендлинг [136]. Эффективным экспериментальным протоколом является экспозиция мыши крысе (1 неделя), затем иммобилизация (2 дня), повторная экспозиция крысе (1 неделя) и чередование различных видов иммобилизации (2 недели) [224—226].

Основным поведенческим показателем в данной модели является уровень потребления стрессированными животными воды, содержащей слабый раствор сахарозы (при наличии альтернативного выбора — обычной воды) [85]. Оценивают как процент предпочтения подслащенной воды, так и процент животных, демонстрирующих или не демонстрирующих данное предпочтение. Дополнительными поведенческими изменениями у животных в данной модели могут быть снижение интереса к новизне среды, нарушения социального поведения, циркадных ритмов и специфические нарушения сна, напоминающие аналогичные проявления депрессии у человека [225]. Указанные поведенческие изменения обратимы и могут быть скорректированы при хроническом введении трициклических или серотонинергических антидепрессантов [247—249]. Ряд других поведенческих изменений у животных в данной модели, соответствующих клиническим признакам депрессии у человека, включает нарушения половой активности, а также различные эндокринные дисфункции [225, 226]. Хронический стресс также приводит к усилению груминга и повышенной агрессии у грызунов, напоминая этим последствия ольфактобульбектомии, что соответствует клиническим данным о симптоматике депрессии [176]. Недостатками данной модели является необходимость отделить неспецифический эффект хронического стресса как такового от более специфического «ангедонического» продепрессивного эффекта, вызываемого в данной модели. В недавних исследованиях с использованием дополнительных контролей (стрессированные животные, не развивающие ангедонию) в данной модели ангедонический домен был отделен от неспецифического действия хронического стресса [224—226]. Эти важные данные подчеркивают то обстоятельство, что именно моделируемая ангедония является ведущим патогенетическим фактором в данной модели депрессии. Стабильное разделение стрессированной группы мышей линии C57Bl/6 на две подгруппы: с ангедонией (<35%) и устойчивые к вызываемой ангедонии (>65%) подчеркивает зависимость протекания стрессорного патогенеза в данной модели от ряда дополнительных факторов [225]. Так, в литературе отмечается важность оценки в данном тесте двигательной активности как возможного побочного фактора, способного затруднить интерпретацию полученных поведенческих данных [226], а также большая роль индивидуальных различий в стресс-реактивности, приводящих в ряде случаев к снижению надежности и репродуцибельности результатов [40]. Кроме вышеупомянутых моделей, в последнее время предложен целый ряд других поведенческих тестов, чувствительных к действию факторов, влияющих на депрессивные состояния животных (табл. 2). Разнообразие методических подходов и их различная эффективность еще раз подчеркивают отме-

ченный ранее факт чрезвычайной гетерогенности механизмов депрессивного патогенеза ЦНС.

В то же время, несмотря на значительный прогресс в данной области, целый ряд вопросов остается открытым. Так, например, хорошо известно, что депрессивное поведение у людей сопровождается усилением суицидального поведения, являющегося одним из симптомов депрессии. В то же время отмечается относительно низкая клиническая эффективность антидепрессантов при терапии суицидального поведения. При этом суицидальный компонент депрессии остается практически неизученным с точки зрения механизмов патогенеза. Кроме того, в настоящее время он находится вне пределов экспериментального моделирования на животных, поскольку до настоящего времени не существует валидных животных моделей суицида.

Также важно и то, что существующие нейробиологические концепции стрессорного поведения и в частности депрессии требуют модификации и пересмотра. Так, например, в литературе обсуждается гетерогенный характер депрессии, которая может быть стрессчувствительной и стресснезависимой [235]. Изучение возможной взаимосвязи депрессии первого типа с тревогой и агрессией, а также выяснение нейрохимического обеспечения данного патогенетического механизма [235] требует дальнейшего адекватного и специфического экспериментального моделирования.

Наконец, давно замечено, что эффективность препаратов в животных моделях стресса часто не совпадает с их клинической эффективностью. Следует отметить, что данные различия может обусловливать ряд факторов, в том числе:

1) более высокий уровень «моделируемой» тревоги и депрессии в животных моделях;

2) более высокий адаптивный «рецепторный» потенциал ЦНС человека по сравнению с мозгом животных;

3) большая чувствительность отделов мозга человека к различным воздействиям в силу большей эволюционной продвинутости;

4) возможные различия в чувствительности рецепторов у животных и человека.

Понимание этих аспектов, безусловно, приблизит нас к более корректному экспериментальному моделированию тревожности и депрессии на животных.

Чувствительность и валидность моделей тревожности и депрессии

Одно из важнейших свойств любой экспериментальной модели патологии — ее ***чувствительность*** к различным фармакологическим, физиологическим, генетическим и иным манипуляциям [67]. Чувствительность модели подразумевает существование четких поведенческих или физиологических изменений в ответ на действие различных внешних или внутренних факторов организма. Существует два типа чувствительности экспериментальных моделей — однонаправленная и двунаправленная. Так, например, при исследовании и поиске новых антитревожных препаратов достаточно, если та или иная модель чувствительна только к анксиолитическому профилю, и ей необязательно быть чувствительной к действию анксиогенных препаратов и манипуляций. С другой стороны, при моделировании тревожной патологии как процесса исследователю важно знать, как та или иная модель реагирует на позитивные и негативные воздействия. С этим связано такое возможное свойство поведенческих моделей как их бидирекциональность (bidirectionality). Это — очень важный признак, характеризующий чувствительность моделей к действию противоположных факторов — т.е. одновременно к позитивным и негативным воздействиям. Примером бидирекциональности среди существующих поведенческих моделей может служить КПЛ (тест на тревожность) или тест Порсолта (модель депрессии). Важно подчеркнуть, что недооценка данного критерия при применении анксиолитиков и антидепрессантов (особенно в новой для исследователя модели) может привести к неправильной интерпретации полученных данных.

В то же время далеко не обязательно требовать бидирекциональности от каждой экспериментальной модели, так как могут существовать модели, эффективно оценивающие усиление тревожности, но при этом нечувствительные к ее снижению. Так, например, высокотревожные малоактивные мыши линии 129S1 в силу их генетических поведенческих особенностей могут оказаться нечувствительными к действию анксиогенных препаратов (запредельный эффект, когда угнетение поведения лимитировано и без того низкой активностью животного). При этом животные данной линии демонстрируют чувствительность к действию анксиолитиков, которые активируют поведение, а следовательно — позволяют оценить изменения в исследовательской и двигательной активности, вызванные позитивными факторами. С другой стороны, мыши линии BALB/c являются высокореактивными и активными животными, и демонстрируют хорошую чувствительность как к негативным, так и позитивным воздействиям [147, 198]. Использование той или иной модели не является обязательным, и должно четко зависеть от конкретной экспериментальной задачи. Бидирекциональная чувствительность может быть необходима при скрининге генетических или фармакологических воздействий с малоизученным спектром эффектов, тогда как для оценки действия препаратов и факторов с предполагаемым (позитивным или негативным) действием, как указывалось ранее, достаточно использовать модель с односторонней чувствительностью.

Другим важным свойством экспериментальной модели является ее ***валидность*** (validity). Несмотря на видимую синонимичность терминов, существует важное различие между понятиями «поведенческий тест» и «поведенческая модель». Поведенческий тест используется для постановки эксперимента с четко поставленными экспериментальными задачами. В значительной степени, это понятие тождественно понятию «экспериментальный протокол», и не обязательно является моделью патологии как таковой. Экспериментальная модель, напротив, ставит перед собой задачу исследования механизмов конкретного патогенеза ЦНС, и потому поведенческий тест становится моделью патологии мозга только тогда, когда подтверждается его валидность.

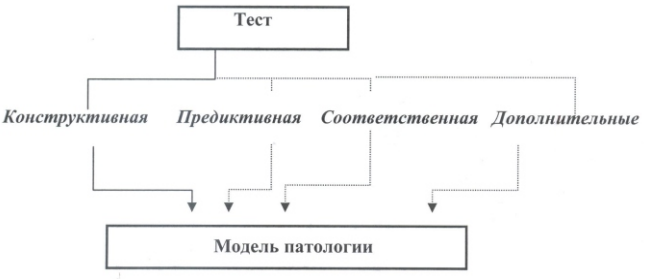


Рис. 6. Основные типы валидности экспериментальной модели

В наиболее широком смысле, валидность теста — правомочность ее использования для адекватного моделирования соответствующей патологии. Валидность модели основана на выполнении ряда критериев, в зависимости от которых ранее выделяли:

1) поведенческую валидность (сходство тревожного поведения у человека и животного в условиях модели, сходную этиологию);

2) нейрофармакологическую валидность (сходный нейрофизиологический субстрат патологии, специфичность и чувствительность модели к конкретным препаратам, эффективность в ней анксиолитиков и неэффективность препаратов, лишенных анксиотропного профиля) [9, 10].

По другой, более общепринятой и современной классификации, рассматривают: предиктивную, соответственную, конструктивную и ряд дополнительных видов валидности поведенческих моделей патологий ЦНС.

Соответственная валидность (face validity) модели тревожности и депрессии — важный критерий валидности, оценивающий, насколько модель феноменологически соответствует патологии. Иногда такую валидность называют интуитивной по характеру, что понимается следующим образом: с одной стороны, модель внешне (поведенчески, физиологически) должна напоминать патологию; с другой стороны, у модели не должно быть каких-либо существенных различий с моделируемой патологией. Так, например, при моделировании депрессии на животных соответственная валидность может быть установлена по способности воздействия влиять на вегетативные симптомы, известные в клинике: концентрацию внимания, аппетит, сон, половое поведение [240].

В частности, селективно выведенные мыши не только демонстрировали повышенную депрессивность (иммобильность) в классических тестах Порсолта и подвешивания за хвост, но и обнаруживали нарушения цикла «сон — бодрствование» и снижение потребление сахарозы (ангедонию) [90], тем самым подтверждая высокую соответственную валидность данной поведенческой модели.

Конструктивная валидность (construct validity) модели — самый важный критерий правомочности использования той или иной модели данной психопатологии. Рассматривает синдромологическое сходство (конструкцию) модели с ситуацией в случае психопатологии. Иными словами, конструктивная валидность оценивает, насколько патофизиологически модель совпадает с патологией на уровне поведения, нейропатофизиологии, временной динамики заболевания ЦНС и факторами риска (предрасположенности). И хотя конструктивная валидность более значима при моделировании, чем две остальные формы валидности, иногда она неоправданно недооценивается исследователями. В целом, модель (в силу разных причин и экспериментальных задач) может не отвечать критериям предиктивной и соответственной валидности, однако всегда обязана соответствовать требованиям конструктивной. Впрочем, как справедливо заметил P. Willner (1991 г.), проблема заключается как раз в том, что доказать конструктивную валидность той или иной поведенческой модели оказывается сложнее всего.

Корректный выбор синдрома при моделировании является основной проблемой конструктивной валидности, поскольку в то время как одни исследователи склонны рассматривать в качестве ведущего один синдром, другие могут быть заинтересованы в совершенно иных синдромах патологии. Так, например, ангедония была предложена в качестве одного из главных маркеров депрессии [247—249], однако в последнее время возникли альтернативные точки зрения, отмечающие существование других важных ее патофизиологических механизмов [35].

Предиктивная валидность (predictive validity) модели тревожности — весьма важный для моделирования критерий валидности, с фармакоэтологической точки зрения призванный ответить на следующие вопросы:

- насколько данная модель позволяет избежать как ложных позитивных ошибок (ошибок I рода), так и негативных ошибок (ошибок II рода);
- насколько эффективность препарата в животной модели коррелирует с его эффективностью при терапии в клинике.

В более широком смысле предиктивная валидность отражает степень чувствительности модели тревожности к анксиотропным манипуляциям вообще, в том числе и к нефармакологическим. Иногда в литературе под чувствительностью модели подразумевают способность избежать ошибок II рода, а под селективностью — ошибок I рода. Ряд исследователей, например [111], полагает, что предиктивная валидность является необходимым и достаточным критерием для экспериментальной модели (в сочетании с ее надежностью и воспроизводимостью). Вероятно, в зависимости от задач исследования недостаток валидности одного типа может быть компенсирован высокой валидностью другого типа. Так, например, высокая предиктивная валидность теста Порсолта (способность с 87—94%-ной вероятностью выявлять поведенческие эффекты клинически эффективных антидепрессантов) обеспечивает широкое применение данной модели в нейробиологии, несмотря на явный недостаток конструктивной и соответственной валидности [44].

Дискриминационная валидность (discriminative validity) — один из дополнительных критериев валидности поведенческой модели тревожности или депрессии, основанный на оценке того, насколько четко модель различает эффекты «полярных» агентов или воздействий — например анксиолитиков и анксиогеников, антидепресантов и продепрессивных веществ и т.д. Вероятно, дискриминационную валидность трудно соотнести с каким-либо из основных критериев валидности, поскольку внешне этот тип валидности может напоминать предиктивную валидность, а этиологически — нести в себе черты конструктивной (и, возможно, соответственной). Скорее всего, дискриминационная валидность является методологически удобным, но необязательным, внешним критерием, не несущим феноменологической нагрузки.

Еще одним дополнительным типом валидности является ***конвергентная валидность*** — степень корреляции данной экспериментальной модели с другими поведенческими моделями, измеряющими (моделирующими) ту же самую патологию ЦНС.

Кроме того, выделяют еще и ***генетическую валидность***, основанную на сходстве генов, вовлеченных в то или иное тревожно-депрессивное поведение в конкретных поведенческих тестах, а также на способности генетических манипуляций вызывать поведенческие изменения в тестах [205].

Фармакологическая валидность отражает правомочность использования той или иной манипуляции для моделирования тревожности или депрессии. Она заключает-

ся в использовании стандартного тест-набора из «эталонных» препаратов, анксиотропный профиль которых детально изучен ранее, и не вызывает сомнений. Так, например, в качестве анксиолитиков используют различные бензодиазепиновые агенты, а в качестве анксиогеников — коразол, пикротоксин или аналогичные вещества. Предполагается, что манипуляция должна быть чувствительна к обоим типам анксиотропных препаратов (т.е. соответствовать предиктивному критерию валидности, который, впрочем, не является основным). Аналогичные подходы существуют и при моделировании депрессивного поведения животных.

С точки зрения моделирования, идеальные экспериментальные модели должны быть чувствительными и валидными, т.е. соответствовать самой патологии с точки зрения:

1) биохимического профиля;
2) симптоматики;
3) чувствительности к терапии;
4) этиологии.

Однако на практике данный набор критериев валидности выполняется лишь в той или иной мере. В зависимости от этого различают следущие виды моделей:

1) предиктивные (использующие виды и линии, специфическим образом реагирующие на стресс);

2) изоморфные (основанные на чисто внешнем сходстве в тревожных реакциях на стресс у животных и человека);

3) гомологичные (сочетающие свойства двух первых).

Очевидно, что «идеальная» поведенческая модель должна быть одновременно предиктивной, изоморфной и гомологичной. Однако на практике это требование практически никогда не достигается, и поэтому гомологичность модели, основанная на ее конструктивной валидности, является наиболее важной (рис. 7). В то же время следует отдавать себе отчет, что симптомы и диагностические критерии тревожно-депрессивных расстройств ЦНС часто пересматриваются и постоянно усовершенствуются. Таким образом, в зависимости от современных знаний о механизмах патогенеза, существенно может изменяться конструктивная валидность модели, и поэтому необходима определенная осторожность, прежде чем говорить о том, что тот или иной тест является поведенческой моделью тревоги или депрессии [111]. В этой связи особое значение приобретает замечание W.T. McKiney [172] о том, что создание идеальной поведенческой модели не является самоцелью науки о мозге, тогда как именно поиск новых и постоянное усовершенствование уже существующих моделей составляет важную часть нейробиологии стресса.

Важное значение в экспериментальном моделировании стресса имеют полотипические особенности — феномен, связанный с тем, что поведение самцов и самок в одних и тех же стандартных условиях поведенческого теста часто принципиально различается [9, 10]. Считается, что самцы по природе более ноофиличны, чем самки, поэтому изучение тревожности у самцов в ноофиличных «умеренных» моделях более логично и валидно. При этом у самок поведение более консервативно, а, следовательно, их тревожность имеет смысл изучать в «мягких» или же в «жестких» моделях. Проблема также заключается и в том, что тревожность или депрессия у самцов и самок в одних и тех же тестовых ситуациях может существенно различаться не только по «количеству» поведения, но и феноменологически — по его «качеству». В любом случае, следует иметь в виду, что многие поведенческие модели, валидность которых доказана для самцов, далеко не обязательно будут адекватными и валидными у самок (для которых потребуется либо усовершенствование моделей, либо применение совершенно иных). Понимание этого аспекта особенно важно при попытках исследователей сопоставить литературные данные, полученные в работах с животными различных полов. Данная методологическая проблема не нова в нейробиологии, однако ее недооценка на практике приводит к тому, что сегодня на 80—90% наши знания о поведении животных в различных моделях относятся к «самцовой» нейробиологии. Определенные неудобства и сложности работы с самками очевидны, и поэтому многие авторы (по нашим оценкам, примерно 65%) принципиально отказываются от тестирования самок. Лишь 20—30% авторов используют оба пола, и около 10% исследуют поведение преимущественно самок [9, 10]. По справедливому утверждению Порсолта [205], среди существующих критериев валидности поведенческих моделей можно выделить так называемый критерий полового диморфизма. Данный критерий основан на том, что модель тревожности и депрессии должна обладать выраженным половым диморфизмом в паттернах поведенческих реакций у самцов и самок, аналогичным широко известному половому диморфизму тревоги и депрессии в клинике [152]. Подчеркнем, что выделение данного критерия в отдельный дополнительный критерий валидности справедливо, хотя он и несет в себе элементы более широкого по смыслу соответственного критерия, «имитируя» клиническую картину патологии у человека. Кроме того, дополнительным критерием валидности модели (ценность которого особенно важна с точки зрения клиники симптомов скрытого, «продромального» характера) может являться ее чувствительность к факторам риска. Данный критерий валидности отражает не столько чувствительность модели к собственно патогенным факторам (что характеризуется ее конструктивной валидностью), сколько ее способность реагировать на события, предшествующие патогенезу (факторы риска).

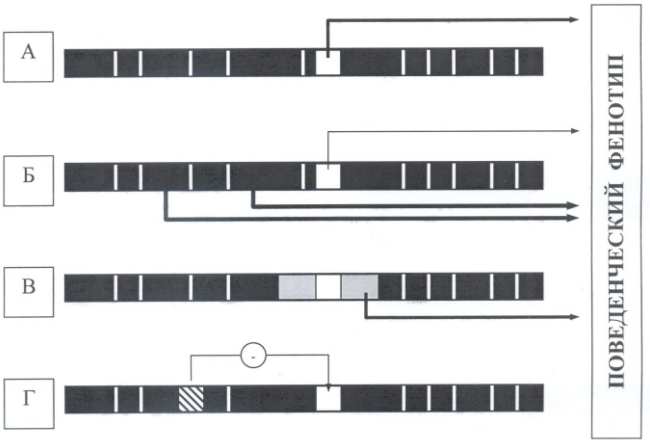


Рис. 7. Экспериментальные проблемы в нейрогенетике стрессорного поведения. Черным выделен фрагмент генома, белым – мутация гена X, серым – фланкирующие гены, штриховкой отмечен ген-модификатор. А – поведенческие аномалии, вызванные мутацией, Б – эффект генетического фона маскирует эффекты мутации гена X (влияние «фонового фенотипа», сила эффекта выражена толщиной стрелок), В – поведенческие изменения вызываются не мутацией X, а активностью фланкирующих генов, Г – мутация X вызывает изменения в поведении, но ее эффекты подавляются генами-модификаторами

Дополнительные характеристики экспериментальных моделей стресса

Помимо чувствительности и валидности моделей, важными свойствами являются их релевантность и надежность. В широком смысле, релевантность модели — это соответствие и сходство результатов воздействия на организм используемых моделью психогенных факторов и состояний с теми процессами, которые наблюдаются в обществе при действии сходных психогенных факторов. Релевантность модели является мерой приближенности экспериментальной модели к социальным условиям, связанным с повышенным риском психопатологии, и должна обязательно учитываться при экспериментальном моделировании тревожно-депрессивного поведения.

Надежность (репродуцибельность) — еще одно важное свойство экспериментальных моделей тревожно-депрессивного поведения [205]. Оно основано на повторяемости результатов, полученных с использованием конкретной поведенческой модели:

1) у других экспериментаторов в пределах одной лаборатории;

2) во времени;

3) в несколько измененных условиях эксперимента;

4) в других лабораториях.

На практике многие факторы существенно варьируют от лаборатории к лаборатории, поэтому репродуцибельность модели как минимум в пределах одной лаборатории должна быть установлена [78, 80, 242].

Как уже указывалось ранее, важное значение имеет возможность сочетать сразу несколько моделей в одной [9, 10], позволяя экспериментатору оценить поведение животного сразу по нескольким поведенческим шкалам (или доменам). Таким образом, потенциальная комбинируемость (гибридизуемость) является важным свойством экспериментальных моделей стресса. Так, например, Т-образный приподнятый лабиринт успешно используют для одновременной оценки памяти и тревожности [73]. Модель стресс-индуцированного ульцерогенеза плаванием можно адаптировать к условиям теста Порсолта [205], почти одновременно оценивая уровень «отчаяния» по поведению, а затем — уровень стресса по интенсивности ульцерогенеза слизистых оболочек желудка. Суок-тест также является удачной моделью-гибридом, поскольку позволяет одновременно оценить сразу несколько поведенческих моделей — тревожность, моторные функции, вестибулярные функции, мото-сенсорную интеграцию а также стресс-индуцированные изменения в мотосенсорной интеграции [14, 149].

Методическая простота протокола модели — еще одно важное свойство поведенческой модели [205]. Оно не является обязательным, но обосновано целым рядом практических факторов. Кроме того, важное свойство экспериментальных моделей стресса — их сочетаемость с другими моделями этой же либо иной патологии ЦНС. Наконец, важным свойством модели является ее наглядность (выраженность поведенческих реакций, легкость их детекции), позволяющая избежать ошибок I и II рода и облегчающая интерпретацию полученных экспериментальных данных.

Молекулярно-генетические подходы

Тревожно-депрессивные расстройства являются комплексной, полигенной патологией ЦНС, и поэтому изучение генетических факторов патогенеза — актуальная задача современной нейробиологии. Развитие молекулярной биологии в настоящее время позволяет вызывать точечные мутации определенных генов, что находит все более широкое применение в нейробиологии стресса [79—82]. Выключение или включение определенных генов у исследуемых линий животных (генетический нок-аут или нок-ин) и тестирование последних в различных описанных выше моделях тревожности позволяет привести нейробиологию стрессорного поведения на уровень конкретных генов. В наиболее общем виде данный подход можно сформулировать как подход «*ген поведение*», поскольку вызывается изменение гена, а затем детально анализируются поведенческие последствия этого. В настоящее время известно множество мутантных линий животных, демонстрирующих сниженное или усиленное тревожно-депрессивное поведение и/или измененную чувствительность к анксиолитикам или антидепрессантам [108, 109, 232]. Наиболее изученными являются нокаутные мыши по генам серотониновых и дофаминовых рецепторов и транспортеров, дофамин-гидроксилазы, моноаминоксидазы (МАО), а также трансгенные мыши с повышенной экспрессией адренорецепторов, кортиколиберина и др. [84, 232].

Второй подход к данной проблеме основан на анализе генетических коррелятов уже существующего поведения — т.е. поиске генетических маркеров (локусов), ответственных за то или иное поведение животного [256]. Указанные алгоритмы могут быть условно выражены схемой «*поведение ген*». Дополнительно, может проводиться более направленный скрининг генетических маркеров патогенеза [124]. Развитие и функционирование ЦНС зависит от экспрессии конкретных генов и тонких взаимодействий белков-продуктов этой экспрессии [178—180]. По разным оценкам, более половины всех генов экспрессируется в мозге, причем характер экспрессии существенно меняется при патологии [63, 163, 178—180]. Использование методов анализа экспрессии генов (microarray, МА) на уровне РНК позволяет вывести наши представления о механизмах патогенеза на качественно новый, молекулярно-генетический уровень [63, 70, 163, 178—180, 208]. МА основан на выделении и гибридизации мРНК исследуемых образцов с олигонуклеотидами или фрагментами комплементарной ДНК различных идентифицированных генов, расположенными на стандартных платформах-микрочипах, с последующим мечением и считыванием данных [169, 191]. МА позволяет анализировать одновременно десятки тысяч генов, приближаясь к анализу всего генома, состоящему у человека из примерно 30 тыс. генов.

Перспективы использования методов МА в нейробиологии стресса включают в себя следующие направления исследований:

- сравнительный анализ экспрессии мозговых генов в норме и патологии;
- анализ экспрессии генов посмертных образцов мозга;
- анализ регионального распределения экспрессии мозговых генов;
- анализ временной динамики паттернов экспрессии в разрезе патогенеза ЦНС;
- выявление транскриптомных сетей в мозге - генных и/или клеточных ансамблей, участвующих в паттернировании экспрессии генов;
- выявление генетических факторов риска патогенеза;
- скрининг генетических маркеров патогенеза в немозговых тканях (например, клетках крови пациентов);

• выявление возможных побочных "метаболических" патогенетических факторов;

• анализ динамики транскриптомного профиля ЦНС на фоне действия различных препаратов и других терапевтических факторов;

• анализ транскриптомного профиля ЦНС на фоне различных генетических модификаций;

• выявление "нейромедиаторных" генов рецепторов и транспортеров, экспрессия которых изменена при патологии, с целью дальнейшей направленной фармакологической коррекции;

• корреляция данных МА у животных и человека с целью валидации поведенческих моделей патогенеза ЦНС, а также поиска "древних" патогенетических механизмов и универсальных генетических маркеров;

• использование МА для анализа клеточных культур, полученных из тканей мозга;

• создание универсальных транкриптомных баз данных и виртуальных атласов мозга человека и животных, доступных другим исследователям.

За последние 5 лет стоимость микрочипа, позволяющего одновременно анализировать экспрессию 10—20 тыс. генов, упала с 7—10 тыс. долл. США в 10—20 раз, становясь сегодня доступной все большему количеству лабораторий. Таким образом, например, уже сейчас стоимость сравнения пилотной группы из 20 животных с соответствующим контролем на фоне почти полного скрининга всего генома может составлять порядка 3000 долл. США — и это при повсеместной тенденции к дальнейшему снижению стоимости таких исследований. В настоящее время существующие возможности позволяют анализировать экспрессию генов не только в отдельных областях мозга человека и животных, но и в одиночных ядрах, небольшой группе нейронов и даже в отдельных клетках, вырезанных лазером из срезов тканей по компьютерной микрофотографии, с последующей протеомной детекцией при помощи протеомных микрочипов [63, 178—180]. Таким образом, благодаря методикам МА анализ уровня активности тысяч генов в организме становится доступным методом исследований нейробиологии и фармакологии стресса [70, 124, 169, 191].

Оба описанных выше подхода являются активными, поскольку непосредственно манипулируют с генетической или поведенческой компонентами. Наконец, третий (пассивный) подход заключается в скрининге уже существующих наследуемых поведенческих аномалий, возникающих за счет естественных (спонтанных) генетических мутаций, а также в селективном скрещивании данных линий с целью усилить исследуемое патологическое поведение [90, 129, 130]. Подобные психогенетические подходы позволяют получить надежные, воспроизводимые и выраженные поведенческие эффекты у животных, а также сконцентрировать усилия исследователей на моделировании клинически более важных врожденных (базовых) механизмов патогенеза [41, 71, 75, 159].

Все три указанных подхода могут быть эффективно использованы при моделировании стрессорного поведения. Хотя подобная «генизация» экспериментальных моделей тревожности представляет собой перспективный и информативный этап развития нейробиологии тревожности, не следует чрезмерно упрощать ситуацию, поскольку далеко не всегда поведение напрямую и линейно зависит от активности того или иного гена. Так, например, взаимодействие ген — геном (фактор генетического окружения) зачастую оказывает существенное воздействие на активность исследуемого гена [110]. Кроме того, организм обладает мощным адаптивных потенциалом, используя многочисленные компенсаторные механизмы. Благодаря этому, мутация важного гена может оказаться незаметной фенотипически и поведенчески. Так, например, мыши, лишенные гена кортиколиберина — ключевого гормона стресса, — вопреки ожиданиям, мало отличаются от обычных мышей и демонстрируют обычную эмоциональную реактивность, память и другие поведенческие характеристики (табл. 4). Сравнительно небольшие поведенческие аномалии отмечаются у мутантных мышей, лишенных важного гена c-fos [103].

Следует отметить, что мозг обладает чрезвычайной пластичностью, вследствие чего нарушенные мутацией функции берутся под контроль другими мозговыми системами, что также приводит к отсутствию ожидаемых поведенческих изменений. Определенный вклад в эти процессы могут вносить нейрогенез в ряде мозговых структур либо синаптогенез, происходящие в зрелом возрасте. Более того, далеко не всегда мутация нарушает какую-либо функцию. Так, в настоящее время активно используются методы, позволяющие создавать новые функции — например, путем введения в геном новых генов, приводящих к экспрессии не свойственных ткани или организму белков либо к несвойственному им усилению уровня экспрессии. Использование новых мутационных методов в нейрогенетике, в том числе тканеспецифических (например, избирательно затрагивающих только ЦНС) и индуцибельных мутаций (активируемых только при введении в организм вещества-индуктора) позволит глубже оценить физиологическое значение конкретных генов в регуляции тревожно-депрессивного поведения. Целый ряд новых направлений исследований в данной области [190], в том числе таких, как введение вовлеченных в патогенез (клинически идентифицированных) генов человека в геном экспериментальных животных с последующим анализом их поведения; создание симптом- и синдромспецифических генетических моделей патогенеза, которые можно будет использовать в качестве экспериментальных стандартов как своеобразный конструктор, обеспечит дальнейшее развитие и усовершенствование экспериментальных моделей стресса.

Еще один нейрогенетический подход — ***анализ экспрессии ряда специфических маркерных генов*** ЦНС, например ранних протоонкогенов c-fos, c-Jun, JunB и других. Он позволяет оценить корреляцию между поведением и активностью нейронов мозга, и является важным методом «функционального картирования» мозга в арсенале исследователей поведения животных [135, 140, 224, 236].

Обнаружение феномена ***РНК-интерференции*** (способности клетки реагировать на появление двухнитевой РНК (дРНК) разрушением цитоплазматической мРНК, гомологичной «обнаруженной» дРНК [228, 229]) открывает новые перспективы модуляции активности мозга путем введения в отделы мозга малых фрагментов дРНК, приводящего к избирательному подавлению экспрессии генов-мишеней. Подобный подход, получивший название *генетический нокдаун* (knock-down) валидирован поведенчески и нейрофизиологически на мышах [228, 229] как эффективный метод выключения активности определенных генов в мозге и как возможный путь генетической терапии патологий ЦНС человека.

Как уже отмечалось ранее, разработаны методики, позволяющие ***вводить отдельные гены*** непосредственно в мозг человека или животных при помощи вирусных векторов-носителей, например [89, 246]. Проникая в клетки, вирусы встраиваются в геном, приводя к экспрессии введенного гена в течение некоторого времени. Данные подходы позволяют осуществлять эффективную генную терапию, например, приводя к синтезу в отдельных областях мозга белков, недостаток которых ранее вызвал патологию. На экспериментальных моделях такие подходы могут быть использованы для избирательного введения генов в отдельные мозговые структуры в различных условиях патогенеза (например, на фоне вызванной нейродегенерации либо при введении ранее отсутствующих генов мутантам-нокаутам). Одним из перспективных и доступных методов введения генов в мозг можно считать интраназальный транспорт [89], имеющий широкие перспективы применения в клинике. Кроме того, современные манипуляции позволяют вводить необходимые гены непосредственно в мозг зародыша, тем самым позволяя осуществлять «пренатальное» моделирование наиболее тяжелых болезней мозга — заболеваний развития.

При использовании генетических моделей стресса следует помнить об их ***психогенетической валидности*** — способности модели адекватно реагировать на генетические различия поведенческих фенотипов. Данная проблема важна в экспериментах с различными линиями животных, различающимися по стресс-реактивности, а также при работе с трансгенными и мутантными животными [233].

Другими возможными проблемами в нейрогенетике стрессорного поведения мутантных животных могут быть:

1) влияние «фонового» фенотипа;

2) проблема фланкирующих генов;

3) эффекты модифицирующих генов (рис. 8) [80, 165].

Действительно, поведенческие особенности фоновой линии животных часто приводят к тому, что эффекты мутации не проявлялись фенотипически (ложный негатив), либо приводили к изменению поведения, не связанному с собственно мутацией (ложный позитив), см. детали в [78—81, 110, 233]. Основными причинами считаются моторные и неврологические аномалии (например малоактивность, плохое зрение), а также слишком высокая или слишком низкая эмоциональная реактивность и специфические когнитивные характеристики (например, плохая или слишком хорошая память, приводящая к отсутствию габитуации) животных фоновых линий [80, 165, 170, 233]. Поскольку успешность гибридизации мутантной ДНК напрямую зависит от ее длины, современные методы создания мутантных линий используют фрагменты ДНК, содержащие (вокруг локуса мутации) так называемые фланкирующие (боковые) фрагменты генома линии-донора. Они удлиняют фрагмент ДНК для гибридизации, и могут содержать до 300 генов «чужеродного» генома даже после 10 скрещиваний [110, 165]. Поскольку геном содержит около 30 тыс. генов, фланкирующие гены составляют порядка 1% от всего генома, поэтому теоретически существует вероятность того, что среди них будут присутствовать гены, модифицирующие поведение (рис. 8). В итоге полиморфизм во фланкирующих генах между линией-донором и линией-реципиентом мутации может привести к фенотипическим изменениям, ошибочно связываемым с эффектом мутации. Кроме того, всегда существует возможность того, что генное окружение в геноме реципиента мутации (так называемые модифицирующие гены) будет подавлять или модифицировать активность мутантного гена, что приведет к тому, что вызванные мутацией поведенческие эффекты будут подавлены или изменены. Поэтому сравнительный анализ поведения животных-мутантов необходимо проводить на нескольких генетических фонах (чтобы минимизировать влияние фонового фенотипа и модифицирующих генов) и оценивать возможный вклад фланкирующих генов (например, используя методы генетического картирования поведения) [104, 105]. Наконец, важная роль в регуляции поведения принадлежит средовым «эпигенетическим» факторам (рис. 1) — в частности влиянию материнского фенотипа на поведение потомства [80]. При выведении гибридных линий этот фактор приобретает важное значение, поскольку особенности поведения материнской линии могут влиять на формирование изучаемого поведенческого фенотипа эпигенетически.

Биоэтика и экспериментальные модели

Подводя итог, необходимо указать на важность этических аспектов при экспериментальном моделировании стрессорного поведения. Таким образом, *биоэтичность* становится еще одним важным свойством модели, во многом определяющим перспективы ее использования. Хорошая, но неэтичная (по отношению к животным) модель может быть не рекомендована к использованию в научной практике из-за нарушения принципов экспериментирования, а полученные результаты — оказаться непубликабельными. Наиболее важные и общепринятые принципы этичного экспериментирования на животных были сформулированы как правило 3R — *R*eduction (снижение числа животных, участвующих в эксперименте), *R*efining (модификация экспериментальных протоколов с целью минимизации дискомфорта животных) и *R*eplacing (замена экспериментов на животных другими методами исследования, не требующими использования животных) [217]. Данный комплекс методических подходов [258, 259] включает следующие рекомендации:

- занижать «ранг» экспериментальных животных там, где это возможно (в частности, использовать крыс, а не кошек, кошек, а не приматов и т.д.);
- заботиться о минимизации боли в ходе эксперимента (в случае, если это не навредит результатам), максимально использовать анестезию.
- не вызывать дополнительный стресс (особенно плохими условиями содержания). Животные не должны испытывать голод, жажду и холод. Адекватные условия содержания позволяют получить более достоверные и валидные данные, и в результате не придется заново повторять эксперименты.
- использовать приручение к рукам (хендлинг) и содержание в обогащенной среде (enrichment). Животные должны быть здоровыми, и не иметь инфекционных и других заболеваний.
- избегать механического удержания животных, чаще использовать для этого руки экспериментатора.
- пользоваться по возможности «мягкими», а не «жесткими» стрессорами, использовать избегаемые стрессоры.
- минимизировать число экспериментальных животных и число самих экспериментов путем:

— усовершенствования методов регистрации поведения (автоматическая видео и/или компьютерная запись);

— использования более широкого поведенческого репертуара.

• как можно чаще использовать сведения, полученные путем наблюдения из живой природы.

• максимально эффективно использовать методы статистического анализа данных, применять мощные статистические критерии, позволяющие выявлять биологические различия на меньших количествах данных, а также использовать для получения новых (более совершенных) поведенческих параметров не новые эксперименты, а данные более ранних опытов, записанные автоматически.

• по возможности снижать продолжительность, интенсивность и частоту стрессорных стимулов.

• работать *in vitro* там, где есть возможность обойтись без *in vivo*.

• Разрабатывать и использовать более точные и эффективные методы исследования, а также методы компьютерного моделирования поведения.

Следование данным принципам экспериментирования позволит исследователю не только соблюдать высокие этические стандарты при исследовании тревожности и депрессии у животных, но и получить более валидные и воспроизводимые поведенческие данные для их последующего анализа и корректной интерпретации.

Список литературы

1. Вальдман А.В., Пошивалов В.П. Фармакологическая регуляция внутривидового поведения. — Ленинград: Медицина, 1984. — 136 с.

2. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Методические указания по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. — М.: Ремедиум, 2000. — С. 126-136.

3. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Перспективы поиска новых анксиолитиков // Экспер. клин. фармакол. — 2002. — Т. 65, №5. — С. 4-17.

4. Дерягина М.А. Манипуляционная активность приматов. — М.: Наука, 1986. — 109 с.

5. Дерягина М.А., Бутовская М.Л. Этология приматов. — М.: Изд-во МГУ, 1992. — 192 с.

6. Калуев А.В. Новые проблемы в ГАМК-ергической фармакологии тревожности // Экспер. клин. фармакол. — 1997. — Т. 60, №5. — С. 3-7.

7. Калуев А.В. Роль поведенческой гиперактивации в формировании тревожности у грызунов // Журн. общ. биол. – 1998. — №5. — С. 15-18

8. Калуев А.В., Нуца Н.А. Arousal и психофармакология тревожности в экспериментальных моделях // Экспер. клин. фармакол. – 1998. — №5. — С. 69-74.

9. Калуев А.В. Стресс, тревожность, поведение. К.: Энигма, 1998. — 98с.

10. Калуев А.В. Проблемы изучения стрессорного поведения. К.: КСФ, 1999. — 134с.

11. Калуев А.В. Груминг и стресс. — М.: Авикс, 2002. — 168 с.

12. Калуев А.В. К.К. Монтгомери и его вклад в биологическую психиатрию // Бехтеревские чтения. — 2004. — С. 30-33.

13. Калуев А.В., Натт Д. О роли ГАМК в тревоге и депрессии // Эксп. клин. фармакол. — 2005. — Т. 67, №4. — С. 71-76.

14. Калуев А.В., Туохимаа П. Суок-тест: новая поведенческая модель тревоги // Нейронауки. — 2005. — №1. — С. 17-23.

15. Козловский В.Л. Анксиолитическая активность блокаторов кальциевых каналов в тестах тревожного поведения у мышей и крыс // Журн. ВНД им. И.П. Павлова. — 1999. — Т. 49, №1. — С. 84-95.

16. Крупина Н.А. Новая модель экспериментального депрессивного синдрома: патофизиологические механизмы: Дисс. на соискание ученой степени д.б.н. – М., 2000. — 338 с.

17. Кудрявцева Н.Н. Применение теста «перегородка» в поведенческих и фармакологических экспериментах // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. — 2002. — Т. 88, №1. — С. 90-105.

18. Лапин И.П., Хаунина Р.А., Мирзаев С.М. Вертикальная двигательная активность мышей тормозится меньшими дозами психотропных препаратов, чем горизонтальная // Бюлл. экспер. биол. мед. – 1995. — №10. — С. 385-387.

19. Лапин И.П. Уменьшение частоты выглядываний из темного отсека — единственный постоянный показатель влияния анксиогенов на поведение мышей в камере «свет-темнота» // Журн. ВНД им. И.П. Павлова. — 1999. — Т. 49, №3. — С. 521-526.

20. Лапин И.П. Модели тревоги на мышах: оценка в эксперименте и критика методики // Экспер. клин. фармакол. — 2000. — Т. 63, №3. — С. 58-62.

21. Лапин И.П. Стресс. Тревога. Депрессия. Алкоголизм. Эпилепсия (Нейрокинуреииновые механизмы и новые подходы к лечению). — СПб: Деан, 2004. — 223 с.

22. Макарчук Н.Е. Влияние аносмии на половой диморфизм паттернов поведения ориентировочно-исследовательского, эмоционального и пассивно-оборонительного поведения у крыс // Журн. ВНД им. И.П. Павлова. — 1998. — Т. 48, №6. — С. 997-1003.

23. Макарчук Н.Е., Калуев А.В. Обоняние и поведение. — К.: КСФ, 2000. — 148 с.

24. Петров В.И., Григорьев И.А., Горбунов С.Г. Методика исследования зоосоциального поведения крыс в психофармакологии // Экспер. клин. фармакол. — 1996. — Т. 59, №4. — С. 65-69.

25. Пошивалов В.П. Фармакоэтология. — СПб.: СПГУ, 1997. — 140 с.

26. Середенин С.Б., Воронин М.В., Яркова М.А. Рецепция Н-3-диазепама в мозге инбредных животных с различной реакцией на эмоциональный стресс // Экспер. клин. фармакол. — 2001. — Т. 64, №1. — С. 63-65.

27. Середенин С.Б., Бадыштов Б.А., Незнамов Г.Г., Махнычева А.Л., Колотилинская Н.В., Надоров С.А. Прогноз индивидуальных реакций на эмоциональный стресс и бензодиазепиновые транквилизаторы // Экспер. клин. фармакол. — 2001. — Т. 64, №1. — С. 3-12.

28. Середенин С.Б., Бадыштов Б.А., Незнамов Г.Г., Колотилинская Н.В., Махнычева А.Л., Надоров С.А. Возможен ли прогноз индивидуальной стресс-устойчивости по оценке эффектов малых доз бензодиазепинов в моделируемой эмоциогенной обстановке? // Экспер. клин. фармакол. — 2001. — Т. 64, №2. — С. 3-10.

29. Середенин С.Б., Вахитова Ю.В., Вахитов В.А. Молекулярно-биологические подходы к созданию геноспецифичных фармакологических препаратов // Экспер. клин. фармакол. — 2001. — Т. 64, №3. — С. 1-12.

30. Середенин С.Б. Лекции по фармакогенетике. — М.: Изд-во МИА, 2004. — 303 с.

31. Adamec R., Kent P., Anisman H., Shallow T., Merali Z. Neural plasticity, neuropeptides and anxiety in animals—implications for understanding and treating affective disorder following traumatic stress in humans // Neurosci. Biobehav. Rev. — 1998. — Vol. 23. — P. 301-318.

32. Adamec R.E., Burton P., Shallow T., Budgell J. NMDA receptors mediate lasting increases in anxiety-like behavior produced by the stress of predator exposure -implications for anxiety associated with posttraumatic stress disorder // Physiol. Behav. — 1999. — Vol. 65. — P. 723-737.

33. Adamec R., Walling S., Burton P. Long-lasting, selective, anxiogenic effects of feline predator stress in mice // Physiol. Behav. — 2004. — Vol. 83. — P. 401-410.

34. Andreatini R.E., Bacellar L.F. Animal models: trait or state measure? The test-retest reliability of the elevated plus-maze and behavioral despair // Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry. — 2000. — Vol. 24. — P. 549-560.

35. Anisman H., Matheson K. Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models // Neurosci. Biobehav. Rev. — 2005. — Vol. 29. — P. 525-546.

36. Apfelbach R., Blanchard C.D., Blanchard R.J., Hayes R.A., McGregor I.S. The effects of predator odors in mammalian prey species: A review of field and laboratory studies // Neurosci. Biobehav. Rev. — 2005. — Vol. 29. — P. 1123-1144.

37. Arborelius L., Owens M.J., Plotsky P.M., Nemeroff C.B. The role of corticotropin-releasing factor in depression and anxiety disorders // J. Endocrinol. — 1999. — Vol. 160. — P. 1-12.

38. Argyropoulos S.V., Sandford J.J., Nutt D.J. The psychobiology of anxiolytic drugs. Part 2: Pharmacological treatments of anxiety // Pharmacol. Ther. — 2000. — Vol. 88. — P. 213-227.

39. Augustsson H., Meyerson B.J. Exploration and risk assessment: a comparative study of male house mice (Mus musculus musculus) and two laboratory strains // Physiol. Behav. — 2004. — Vol. 81. — P. 685-698.

40. Auriacombe M., Reneric J.P., Le Moal M. Animal models of anhedonia // Psychopharmacol. — 1997. — Vol. 134. — P. 337-338.

41. Avgustinovich D.F., Lipina T.V., Bondar N.P., Alekseyenko O.V., Kudryavtseva N.N. Features of the genetically defined anxiety in mice // Behav. Genet. — 2000. — Vol. 30. — P. 101-109.

42. Avgustinovich D.F., Alekseyenko O.V., Koryakina L.A. Effects of chronic treatment with ipsapirone and buspirone on the C57BL/6J strain mice under social stress // Life Sci. — 2003. — Vol. 72. — P. 1437-1444.

43. Avgustinovich D.F. Anxiety in females induced by long-lasting psychoemotional influences // Neurosci. Behav. Physiol. — 2005. — Vol. 35. — P. 193-199.

44. Bai F., Li X., Clay M., Lindstrom T., Skolnick P. Intra- and interstrain differences in models of «behavioural despair» // Pharmacol. Biochem. Behav. — 2001. — Vol. 70. — P. 187-192.

45. Barlow D.H., Wincze J. DSM-IV and beyond: what is generalized anxiety disorder? // Acta Psychiatr. Scand. Suppl. — 1998. — Vol. 393. — P. 23-29.

46. Belzung C. Measuring rodent exploratory behavior // Handbook of Molecular Genetics for Brain and Behavior Research / Eds. W.E. Cruzio, R.T. Gerlai, — NY.: Elsevier, 1999. — P. 738-749.

47. Belzung C. The genetic basis of the pharmacological effects of anxiolytics: a review based on rodent models // Behav. Pharmacol. — 2001. — Vol. 12. — P. 451-460.

48. Belzung C, Le Pape G. Comparison of different behavioral test situations used in psychopharmacology for measurement of anxiety // Physiol. Behav. — 1994. — Vol. 56. — P. 623-628.

49. Belzung C, Griebel G. Mesuring normal and pathological anxiety-like behavior in mice: a review // Behav. Brain Res. — 2001. — Vol. 125. — P. 141-149.

50. Berlyne D.E. The arousal and satiation of perceptual curiosity in the rat // J. Comp. Physiol. Psychol. — 1955. — Vol. 48. — P. 238-246.

51. Berlyne D.E. Uncertainty and conflict: a point of contact between information-theory and behavior-theory concepts // Psychol. Rev. — 1957. — Vol. 64. — P. 329-339.

52. Berlyne D.E. Arousal, reward and learning // Ann. NY Acad. Sci. — 1969. — Vol. 159. — P. 1059-1070.

53. Berlyne D.E., Koenig I.D., Hirota T. Novelty, arousal, and the reinforcement of diversive exploration in the rat // J. Comp. Physiol. Psychol. — 1966. — Vol. 62. — P. 222-226.

54. Berridge K.C., Aldridge J.W. Super-stereotypy I: Enchancement of a complex movement sequence by systemic dopamine D1 agonists // Synapse. — 2000. — Vol. 37. — P. 194-204.

55. Berridge K.C., Fentress J.C., Parr H. Natural syntax rules control action sequence of rats // Behav. Brain Res. — 1987. — Vol. 23. — P. 59-68.

56. Bert B., Felicio L.F., Fink H., Nasello A.G. The use of sudden darkness in mice: a behavioural and pharmacological approach // Psychopharmacol. — 2005. — Vol. 179. — P. 846-853.

57. Besag F.M. Behavioural effects of the new anticonvulsants // Drug Safety — 2001. — Vol. 24. — P. 513-536.

58. Blanchard R.J., Blanchard D.C., Weiss S.M., Meyer S. The effects of ethanol and diazepam on reactions to predatory odours // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1990. — Vol. 35. — P. 775-780.

59. Blanchard C.D., Hynd A.L., Minke K.A., Minemoto T., Blanchard R.J. Human defensive behaviors to threat scenarios show parallels to fear- and anxiety-related defense patterns of non-human mammals // Neurosci. Biobehav. Rev. — 2001. — Vol. 25. — P. 761-770.

60. Blanchard D.C., Griebel G., Blanchard R.J. The Mouse Defense Test Battery: pharmacological and behavioral assays for anxiety and panic // Eur. J. Pharmacol. — 2003. — Vol. 28, №463. — P. 97-116.

61. Blanchard R.J., Blanchard D.C. Some suggestions for revitalizing aggression research // Novartis Found. Symp. — 2005. — Vol. 268. — P. 4-12.

62. Bolmont B., Gangloff P., Vouriot A., Perrin P.P. Mood states and anxiety influence abilities to maintain balance control in healthy human subjects // Neurosci. Lett. — 2002. — Vol. 329. — P. 96-100.

63. Bonaventure P., Guo H., Tian B., Liu X., Bittner A., Roland B., Salunga R., Ma X.J., Kamme F., Meurers B., Bakker M., Jurzak M., Leysen J.E., Erlander M.G. Nuclei and subnuclei gene expression profiling in mammalian brain // Brain Res. — 2002. — Vol. 943. — P. 38-47.

64. Bourin M., Hascoet M. The mouse light/dark box test // Eur. J. Pharmacol. — 2003. — Vol. 463. — P. 55-65.

65. Bourin M., Chenu F., Ripoll N., David D.J. A proposal of decision tree to screen putative antidepressants using forced swim and tail suspension tests // Behav. Brain Res. — 2005. — Vol. 164. — P. 266-269.

66. Bouwknecht J.A., Paylor R. Behavioral and physiological mouse assays for anxiety: a survey in nine mouse strains // Behav. Brain. Res. — 2002. — Vol. 136. — P. 489-501.

67. Broekkamp C. Predictive validity and the robustness criterion for animal models // Psychopharmacol. — 1997. — Vol. 134. — P. 341-343.

68. Brudzynski S.M., Krol S. Analysis of locomotor activity in the rat: parallelism index, a new measure of locomotor exploratory pattern // Physiol. Behav. — 1997. — Vol. 62. — P. 635-642.

69. Bruhwyler J., Liegeois J.F., Lejeune C. New dibenzazepine derivatives with disinhibitory and/or antidepressant potential: neurochemical and behavioural study in the open field and forced swimming tests // Behav. Pharmacol. — 1995. — Vol. 6. — P. 830-838.

70. Bunney W.E., Bunney B.G., Vawter M.P., Tomita H., Li J., Evans S.J., Choudary P.V., Myers R.M., Jones E.G., Watson S.J., Akil H. Microarray technology: a review of new strategies to discover candidate vulnerability genes in psychiatric disorders // Am. J. Psychiatry. — 2003. — Vol. 160. — P. 657-666.

71. Calatayud F., Belzung C., Aubert A. Ethological validation and the assessment of anxiety-like behaviours: methodological comparison of classical analyses and structural approaches // Behav. Processes. — 2004. — Vol. 67. — P. 195-206.

72. Cao W., Burkholder T., Wilkins L., Collins A.C. A genetic comparison of behavioral actions of ethanol and nicotine in the mirrored chamber // Pharmacol. Biochem. Behav. -1993. — Vol. 45. — P. 803-809.

73. Carvalho-Netto E.F., Nunes-de-Souza R.L. Use of the elevated T-maze to study anxiety in mice // Behav. Brain Res. — 2004. — Vol. 148. — 119-132.

74. Choleris E., Thomas A.W., Kavaliers M., Prato F.S. A detailed ethological analysis of the mouse open field test: effects of diazepam, chlordiazepoxide and an extremely low frequency pulsed magnetic field // Neurosci. Biobehav. Rev. — 2001. — Vol. 25. — P. 235-260.

75. Clement Y., Calatayud F., Belzung C. Genetic basis of anxiety-like behaviour: a critical review // Brain Res. Bull. — 2002. — Vol. 57. — P. 57-71.

76. Cole J., Hillmann M., Seidelmann D., Klewer K., Jones G.H. Effects of benzodiazepine receptor partial inverse agonists in the elevated plus maze test of anxiety in the rat // Psychopharmacol. — 1995. — Vol. 121. — P. 118-126.

77. Cook M.N., Williams R.W., Flaherty L. Anxiety-related behaviors in the elevated zero-maze are affected by genetic factors and retinal degeneration // Behav. Neurosci. — 2001. — Vol. 115. — P. 468-476.

78. Crabbe J.C., Wahlstein D., Dudek B.C. Genetics of mouse behavior: interaction with laboratory environment // Science. — 2002. — Vol. 284. — P. 1670-1672.

79. Crawley J.N. Behavioral phenotyping of transgenic and knockout mice: experimental design and evaluation of general health, sensory functions, motor abilities, and specific behavioral tests // Brain Res. — 1999. — Vol. 835. — P. 18-26.

80. Crawley J.N. What's wrong with my mouse? Behavioural phenotyping of transgenic and knockout mice. — NY.: Wiley-Liss, 2000. — 386 p.

81. Crawley J.N., Paylor R. A proposed test battery and constellations of the specific behavioral paradigms to investigate the behavioral phenotypes of transgenic and knockout mice // Horm. Behav. — 1997. — Vol. 31. — P. 197-211.

82. Crawley J.N. Designing mouse behavioral tasks relevant to autistic-like behaviors // Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev. — 2004. — Vol. 10. — P. 248-258.

83. Cruzio W.E. Genetic dissection of mouse exploratory behaviour // Behav. Brain Res. — 2001. — Vol. 125. — P. 127-132.

84. Cryan J.F., Mombereau C., Vasscout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: Review of pharma-

cological and genetic studies in mice // Neurosci. Biobehav Revs. — 2005. — Vol. 29. — P. 571-625.

85. Dalvi A., Lucki I. Murine models of depression // Psychopharmacol. — 1999. — Vol. 147. — P. 14-16.

86. De Angelis L., Furlan C. The anxiolytic-like properties of two selective MAOIs, moclobemide and selegiline, in a standard and an enhanced light/dark aversion test // Pharmacol. Biochem. Behav. — 2000. — Vol. 65. — P. 649-653.

87. De Vry J., Benz U., Schreiber R., Traber J. Shock-induced ultrasonic vocalization in young adult rats: a model for testing putative anti-anxiety drugs // Eur. J. Pharmacol. — 1993. — Vol. 249. — P. 331-339.

88. Dishman R.K. Brain monoamines, exercise, and stress: animal models // Med. Sci. Sports Exercise. — 1997. — Vol. 29. — P. 63-74.

89. Draghia R., Caillaud C., Manicom R., Pavirani A., Kahn A., Poenaru L. Gene delivery into the central nervous system by nasal instillation in rats // Gene Ther. — 1995. — Vol. 2. — P. 418-423.

90. El Yacoubi M., Bouali S., Popa D., Naudon L., Leroux-Nicollet I., Hamon M., Costentin J., Adrien J., Vaugeois J.M. Behavioral, neurochemical, and electrophysiological characterization of a genetic mouse model of depression // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2003. — Vol. 100. — P. 6227-6232.

91. Erez O., Gordon C.R., Sever J., Sadeh A., Mintz M. Balance dysfunction in childhood anxiety: findings and theoretical approach // J. Anxiety Disords. — 2002. — Vol. 461. — P. 1-16.

92. Estanislau C., Morato S. Prenatal stress produces more behavioral alterations than maternal separation in the elevated plus-maze and in the elevated T-maze // Behav. Brain Res. — 2005. — Vol. 163. — P. 70-77.

93. Fentress J.C. The tonic hypothesis and the patterning of behaviour // Ann. NY Acad. Sci. — 1977. — Vol. 290. — P. 370-394.

94. Fentress J.C. Expressive contexts, fine structure, and central mediation of rodent grooming // Ann. NY Acad. Sci. — 1988. — Vol. 525. — P. 18-26.

95. Fernandes C., File S. The influence of open arm ledges and maze experience in the elevated plus maze // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1996. — Vol. 54. — P. 31-40.

96. File S.E., Wardill M. The reliability of the hole-board apparatus // Psychopharmacol. — 1975. — Vol. 44. — P. 47-51.

97. File S.E. The interplay of learning and anxiety in the elevated plus-maze // Behav. Brain Res. — 1993. — Vol. 58. — P. 199-202.

98. File S.E. Animal models of different anxiety states: In: GABA-A receptors and Anxiety: From Neurobiology to Treatment / Eds. G. Biggio, E. Sanna, E. Costa. — NY.: Raven Press, 1995 — P. 93-113.

99. File S.E. Recent developments in anxiety, stress, and depression // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1996. — Vol. 54. — P. 3-12.

100. File S.E. Factors controlling measures of anxiety and responces to novelty in the mouse // Behav. Brain Res. — 2001. — Vol. 125. — P. 151-157.

101. File S.E., Seth P. A review of 25 years of the social interaction test // Eur. J. Pharmacol. — 2003. — Vol. 463. — P. 35-53.

102. Finn D.A., Rutledge-Gorman M.T., Crabbe J.C. Genetic animal models of anxiety // Neurogenet. — 2003. — Vol. 4. — P. 109-135.

103. Fleischmann A., Hvalby O., Jensen V., Strekalova T., Zacher C., Layer L.E., Kvello A., Reschke M., Spanagel R., Sprengel R., Wagner E.F., Gass P. Impaired long-term memory and NR2A-type NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in mice lacking c-Fos in the CNS // J. Neurosci. — 2003. — Vol. 23. — P. 9116-9122.

104. Flint J., Corley R., DeFries J.C., Fulker D.W., Gray J.A., Miller S., Colins A.C. A simple genetic basis for a complex psychological trait in laboratory mice // Science. — 1995. — Vol. 269. — P. 1432-1435.

105. Flint J. Animal models of anxiety and their molecular dissection // Sem. Cell Dev. Biol. — 2003. — Vol. 14. — P. 37-42.

106. Flint J. The genetic basis of neuroticism // Neurosci. Biobehav. Rev. — 2004. — Vol. 28. — P. 307-316.

107. Freeman M.P., Freeman S.A., McElroy S.L. The comorbidity of bipolar and anxiety disorders: prevalence, psychobiology, and treatment issues // J. Affect. Disord. — 2002. — Vol. 68. — P. 1-23.

108. Gambarana A, Scheggi S., Tagliamonte A., Tolu P., De Montis M.G. Animal models for the study of antidepressant activity // Brain Res. Protoc. — 2001. — Vol. 7. — P. 11-20.

109. Gardier A.M., Bourin M. Appropriate use of «knockout» mice as models of depression or models of testing the efficacy of antidepressants // Psychopharmacol. — 2001. — Vol. 153. — P. 393-394.

110. Gerlai R. Gene-targeting studies of mammalian behavior: is it the mutation or the background genotype? // Trends Neurosci. — 1996. — Vol. 19. — P. 177-181.

111. Geyer M.A., Markou A. The role of preclinical models in the development of psychotropic drugs. In: Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress / Eds. K.L. Davis, D. Charney, J.T. Coyle, C. Nemeroff, NY.: Lippincott Williams Wilkins. — 2002. — P. 445-455.

112. Gonzales L.E., File S.E. Selectively bred lines of rats differ in social interaction and hippocampal 5-HT1A receptor function: a link between anxiety and depression? // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1998. — Vol. 59. — P. 787-792.

113. Gonzalez-Maeso J., Yuen T., Ebersole B.J., Wurmbach E., Lira A., Zhou M., Weisstaub N., Hen R., Gingrich J.A., Sealfon S.C. Transcriptome fingerprints distinguish hallucinogenic and nonhallucinogenic 5-hydroxytryptamine 2A receptor agonist effects in mouse somatosensory cortex // J. Neurosci. — 2003. — Vol. 23. — P. 8836-8843.

114. Gray J.A. The psychology of fear and stress. — NY.: Mc Graw-Hill Book Co, 1974. — 256 p.

115. Gray J.A. The neuropsychology of anxiety: an enquiry into the fuction of the septo-hippocampal system. — NY.: Oxford University Press, 1982. — 383 p.

116. Gray J.A. Precis of the neuropsychology of anxiety: an enquiry into the fuctions of the septo-hippocampal system // Behav. Brain Sci. — 1982. — Vol. 5. — P. 469-534.

117. Graeff F.G., Viana M.B., Tomaz C. The elevated T maze, a new experimental model of anxiety and memory: effect of diazepam // Braz. J. Med. Biol. Res. — 1993. — Vol. 26. — P. 67-70.

118. Graeff F.G., Netto C.F., Zangrossi H. The elevated T-maze as an experimental model of anxiety // Neurosci. Biobehav. Rev. — 1998. — Vol. 23. — P. 237-246.

119. Griebel G., Belzung C., Misslin R., Vogel E. The free-exploratory paradigm: an effective method for measuring neophobic behaviour in mice and testing potential neophobia-reducing drugs // Behav. Pharmacol. — 1993. — Vol. 4. — P. 673-644.

120. Griebel G., Sanger D.J., Perrault G. The use of the rat elevated plus-maze to discriminate between non-selective and BZ-1 (w1) selective, benzodiazepine receptor ligands // Psychopharmacol. — 1996. — Vol. 124. — P. 245-254.

121. Griebel G., Belzung C., Perrault G., Sanger D.J. Differences in anxiety-related behaviours and in sensitivity to diazepam in inbred and outbred strains of mice // Psychopharmacol. — 2000. — Vol. 148. — P. 164-170.

122. Hall C.S. Emotional behaviour in the rat. I Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality // J. Comp. Psychol. — 1934. — Vol. 22. — P. 345-352.

123. Hall C.S. Emotional behaviour in the rat: III. The relationship between emotionality and ambulatory activity // J. Comp. Psychol. — 1936. — Vol. 22. — P. 345-352.

124. Hamet P., Tremblay J. Genetics and genomics of depression // Metabolism — 2005. — Vol. 54. — Suppl. 1. — P. 10-15.

125. Handley S., Mitthani S. Effects of alpha-adrenoreceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of «fear»-motivated behaviour // Naunym-Schmiedeberg. Arch. Pharmacol. — 1984. — Vol. 327. — P. 1-5.

126. Handley S., Spooner H.A., McCreary A.C., McBlane J. Factor analysis of behaviour in the elevated X-maze // J. Psychopharmacol. — 1995. — Vol. 9. — P. 32.

127. Hascoet M., Bourin M. A new approach to the light/dark test procedure in mice // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1998. — Vol. 60. — P. 645-653.

128. Hedou G., Pryce C., Di Iorio L., Heidbreder C.A., Feldon J. An automated analysis of rat behavior in the forced swim test // Pharmacol. Biochem. Behav. — 2001. — Vol. 70. — P. 65-76.

129. Henn F.A., Vollmayr B. Basic pathophysiological mechanisms in depression: what are they and how might they affect the course of the illness? // Pharmacopsychiatry. — 2004. — Vol. 37. — P. 152-156.

130. Henn F.A., Vollmayr B. Stress models of depression: forming genetically vulnerable strains // Neurosci. Biobehav. Rev. — 2005. — Vol. 29. — P. 799-804.

131. Ho Y.J., Eichendorff J., Schwarting R.K. Individual response profiles of male Wistar rats in animal models for anxiety and depression // Behav. Brain Res. — 2002. — Vol. 136. — P. 1-12.

132. Holmes P.V., Davis R.C., Masini C.V., Primeaux S.D. Effects of olfactory bulbectomy on neuropeptide gene expression in the

rat olfactory/limbic system // Neurosci. — 1998. — Vol. 86. — P. 587-596.

133. Holmes P.V. Rodent models of depression: reexamining validity without anthropomorphic inference // Crit. Rev. Neurobiol. — 2003. — Vol. 15. — P. 143-174.

134. Hossain S.M., Wong B.K., Simpson E.M. The dark phase improves genetic discrimination for some high throughput mouse behavioral phenotyping // Genes Brain Behav. — 2004. — Vol. 3. — P. 167-177.

135. Huang Y.H., Cheng C.Y., Hong C.J., Tsai S.J. Expression of c-Fos-like immunoreactivity in the brain of mice with learned helplessness // Neurosci. Lett. — 2004. — Vol. 363. — P. 280-283.

136. Izumi J., Washizuka M., Hayashi-Kuwabara Y., Yoshinaga K., Tanaka Y., Ikeda Y., Kiuchi Y., Oguchi K. Evidence for a depressive-like state induced by repeated saline injections in Fischer 344 rats // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1997. — Vol. 57. — P. 883-888.

137. Kafkafi N., Mayo C., Drai D., Golani I., Elmer G. Natural segmentation of the locomotor behavior of drug-induced rats in a photobeam cage // J. Neurosci. Methods — 2001. — Vol. 109. — P. 111-121.

138. Kafkafi N., Pagis M., Lipkind D., Mayo C.L., Benjamini Y., Golani I., Elmer G.I. Darting behavior: a quantitative movement pattern designed for discrimination and replicacibility in mouse locomotor behavior // Behav. Brain Res. — 2003. — Vol. 142. — P. 193-205.

139. Kafkafi N., Elmer G.I. Activity density in the open field: a measure for differentiating the effects of psychostimulants // Pharmacol. Biochem. Behav. — 2005. — Vol. 80. — P. 239-249.

140. Kalueff A.V., Maisky V.A., Pilyavsky A.I., Makarchuk N.E. Persistent c-fos expression and NADPH-d reactivity in the medulla and the lumbar spinal cord in rat with short-term peripheral anosmia // Neurosci. Lett. — 2001. — Vol. 3. — P. 131-134.

141. Kalueff A.V. Neuroethological models of anxiety and depression // K.C. Montgomery memorial lecture. — M., 2003. — P. 1-30.

142. Kalueff A.V., Lou Y.R., Laaksi I., Tuohimaa P. Increased anxiety in mice lacking vitamin D receptor gene // Neuroreport. — 2004. — Vol. 15. — P. 1271-1274.

143. Kalueff A.V., Tuohimaa P. Grooming analysis algorithm for neurobehavioural stress research // Brain Res. Protoc. — 2004. — Vol. 13. — P. 151-158.

144. Kalueff A.V., Tuohimaa P. Contrasting grooming phenotypes in C57Bl/6 and 129S1/SvImJ mice // Brain Research. — 2004. — Vol. 1028. — P. 75-82.

145. Kalueff A.V., Tuohimaa P. Experimental modeling of anxiety and depression // Acta Neurobiol. Exper. — 2004. — Vol. 64. — P. 439-448.

146. Kalueff A.V., Tuohimaa P. The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research // J. Neurosci. Methods. — 2005. — Vol. 143. — P. 169-177.

147. Kalueff A.V., Tuohimaa P. Contrasting grooming phenotypes in three mouse strains markedly different in anxiety and activity (129S1, BALB/c and NMRI) // Behav. Brain Res. — 2005. — Vol. 160. — P. 1-10.

148. Kalueff A.V., Lou Y.R., Laaksi I., Tuohimaa P. Abnormal behavioral organization of grooming in mice lacking the vitamin D receptor gene // J. Neurogenet. — 2005. — Vol. 19. — P. 1-24.

149. Kalueff A.V., Tuohimaa P. The Suok («ropewalking») murine test of anxiety // Brain Res. Protoc. — 2005. — Vol. 14. — P. 87-99.

150. Kalueff A.V., Minasyan A., T. Keisala, Tuohimaa P. A New Behavioural Paradigm for Anxiety Research in Rodents — the Suok «Ropewalking» Test. In: Trends in Brain Research / Ed. F. Columbus, NT.: Nova Science, 2006, in press.

151. Kelly J.P., Wrynn A.S., Leonard B.E. The olfactory bulbectomized rat as a model of depression: an update // Pharmacol. Ther. — 1997. — Vol. 74. — P. 299-316.

152. Kessler R.C. The epidemiology of pure and comorbid generalized anxiety disorder: a review and evaluation of recent research // Acta Psychiatr. Scand. Suppl. — 2000. — Vol. 406. — P. 7-13.

153. Kliethermes C.L., Finn D.A., Crabbe J.C. Validation of a modified mirrored chamber sensitive to anxiolytics and anxiogenics in mice // Psychopharmacol. — 2003. — Vol. 169. — P. 190-197.

154. Kudryavtseva N.N. Use of the «partition» test in behavioral and pharmacological experiments // Neurosci. Behav. Physiol. — 2003. — Vol. 33. — P. 461-471.

155. Kudryavtseva N.N., Bondar N.P., Avgustinovich D.F. Association between experience of aggression and anxiety in male mice // Behav. Brain Res. — 2002. — Vol. 133. — P. 83-93.

156. Kudryavtseva N.N., Bondar N.P., Avgustinovich D.F. Effects of repeated experience of aggression on the aggressive motivation and development of anxiety in male mice // Neurosci. Behav. Physiol. — 2004. — Vol. 37. — P. 721-730.

157. Kufler D.J. Biological markers of depression: In: The Diagnosis of Depression / Eds J.P. Feighner, W.F. Boyer, Chichester, Willey & Sons, 1991. — P. 79-98.

158. Lamberty Y. The mirror chamber test for testing anxiolytics: is there a mirror-induced stimulation? // Physiol. Behav. — 1998. — Vol. 64. — P. 703-705.

159. Langraf R. HAB/LAB rats: an animal model of extremes in trait anxiety and depression // Clin. Neurosci. Res. — 2003. — Vol. 3. — P. 239-244.

160. Lathe R. The individuality of mice // Genes Brain Behav. — 2004. — Vol. 3. — P. 317-327.

161. Lepicard E.M., Venault P., Perez-Diaz F., Joubert C., Berthoz A., Chapouthier G. Balance control and posture differences in the anxious BALB/cByJ mice compared to the non anxious C57BL/6J mice // Behav Brain Res. — 2000. — Vol. 117. — P. 185-195.

162. Lepicard E.M., Venault P., Negroni J., Perez-Diaz F., Joubert C., Nosten-Bertrand M., Berthoz A., Chapouthier G. Posture and balance responses to a sensory challenge are related to anxiety in mice // Psychiatry Res. — 2003. — Vol. 118. — P. 273-284.

163. Li M.D., Konu O., Kane J.K., Becker K.G. Microarray technology and its application on nicotine research // Mol. Neurobiol. — 2002. — Vol. 25. — P. 265-285.

164. Lino-de-Oliveira C., De Lima T.C., de Padua Carobrez A. Structure of the rat behaviour in the forced swimming test // Behav. Brain Res. — 2005. — Vol. 158. — P. 243-250.

165. Lipp H.P., Wolfer D.P. Genetical background problems in the analysis of cognitive and neuronal changes in genetically modified animals // Clin. Neurosci. Res. — 2003. — Vol. 3. — P. 223-231.

166. Liu X., Gershenfeld H.K. An exploratory factor analysis of the tail suspension test in 12 inbred strains of mice and an F2 intercross // Brain Res. Bull. — 2003. — Vol. 60. — P. 223-231.

167. Londei T., Valentini A.M., Leone V.G. Investigative burying by laboratory mice may involve non-functional, compulsive, behaviour // Behav. Brain Res. — 1998. — Vol. 94. — P. 249-254.

168. Lorenz K. The Foundations of Ethology. — NY.: Springer, 1981. — 712 p.

169. Luo Z., Geschwind D.H. Microarray applications in neuroscience // Neurobiol. Dis. — 2001. — Vol. 8. — P. 183-193.

170. McFadyen M.P., Kusek G., Bolivar V.J., Flaherty L. Differences among eight inbred strains of mice in motor ability and motor learning on a rotorod // Genes Brain Behav. — 2003. — Vol. 2. — P. 214-219.

171. McKinney W.T. Animal models of depression: an overview // Psychiatry. — 1984. — Vol. 2. — P. 77-96.

172. McKinney W.T. Overview of the past contributions in animal models and their changing place in psychiatry // Sem. Clin. Psychiatry — 2004. — Vol. 6. — P. 68-78.

173. Miczek K.A. Intraspecies aggression in rats: effects of d-amphetamine and chlordiazepoxide // Psychopharmacol. — 1974. — Vol. 39. — P. 275-301.

174. Miczek K.A., Thompson M.L., Shuster L. Naloxone injections into the periaqueductal grey area and arcuate nucleus block analgesia in defeated mice // Psychopharmacol. — 1985. — Vol. 87. — P. 39-42.

175. Miczec K.A., Fish E.W., De Bold J.F. Neurosteroids, GABAA receptors, and escalated aggressive behavior // Horm. Behav. — 2003. — Vol. 44. — P. 242-257.

176. Mineur Y.S., Prasol D.J., Belzung C., Cruzio W.E. Agonistic behavior and unpredictable chronic mild stress in mice // Behav. Genet. — 2003. — Vol. 33. — P. 513-519.

177. Mintz M. Balance dysfunction in childhood anxiety: findings and theoretical approach // Ann. Gen. Hosp. Psychiatry. — 2003. — Vol. 2. — P. S53.

178. Mirnics K. Microarrays in brain research: the good, the bad and the ugly // Nat. Rev. Neurosci. — 2001. — Vol. 2. — P. 444-447.

179. Mirnics K., Pevsner J. Progress in the use of microarray technology to study the neurobiology of disease // Nat. Neurosci. — 2004. — Vol. 7. — P. 434-439.

180. Mirnics K., Levitt P., Lewis D.A. DNA microarray analysis of postmortem brain tissue // Int. Rev. Neurobiol. — 2004. — Vol. 60. — P. 153-181.

181. Montgomery K.C. The relation between exploratory behavior and spontaneous alternation in the white rat // J. Comp. Physiol. Psychol. — 1951. — Vol. 44. — P. 582-589.

182. Montgomery K.C. Exploratory behavior and its relation to spontaneous alternation in a series of maze exposures // J. Comp. Physiol. Psychol. — 1952. — Vol. 45. — P. 50-57.

183. Montgomery K.C. Exploratory behavior as a function of similarity of stimulus situations // J. Comp. Physiol. Psychol. — 1953. — Vol. 46. — P. 129-133.

184. Montgomery K.C. The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior // J. Comp. Physiol. Psychol. — 1955. — Vol. 48. — P. 254-260.

185. Montgomery K.C., Monkman J.A. The relation between fear and exploratory behavior // J. Comp. Physiol. Psychol. — 1955. — Vol. 48. — P. 132-136.

186. Nadal R.A., Pallares M.A., Ferre N.S. The effects of caffeine in the social interaction test and on exploration in rats: comparison with ethanol and clorazepate // Behav. Pharmacol. — 1993. — Vol. 4. — P. 501-508.

187. Naitoh H., Nomura S., Kunimi Y., Yamaoka K. «Swimming-induced head twitching» in rats in the forced swimming test induced by overcrowding stress: a new marker in the animal model of depression? // Keio. J. Med. — 1992. — Vol. 41. — P. 221-224.

188. Nasello A.G., Machado C., Bastos J.F., Felicio L.F. Sudden darkness induces a high activity-low anxiety state in male and female rats // Physiol. Behav. — 1998. — Vol. 63. — P. 451-454.

189. Nasello A.G., Sassatani A.S., F.S. Ferreira, Felicio L.F., Tieppo C.A. Modulation by sudden darkness of apomorphine-induced behavioral responses // Physiol. Behav. — 2003. — Vol. 78. — P. 521-528.

190. Nestler E.J., Gould E., Manji H., Buncan M., Duman R.S., Greshenfeld H.K., Hen R., Koester S., Lederhendler I., Meaney M. Preclinical models: status of basic research in depression // Biol. Psychiatry. — 2002. — Vol. 52. — P. 503-528.

191. Newton S.S., Bennett A., Duman R.S. Production of custom microarrays for neuroscience research // Methods. — 2005. — Vol. 37. — P. 238-246.

192. Nutt D.J. Treatment of depression and concomitant anxiety // Eur. Neuropsychopharmacol. — 2000. — Vol. 10. — P. S433-447.

193. Nutt D.J. Neurobiological mechanisms in generalized anxiety disorder // J. Clin. Psychiatry. — 2001. — Vol. 62. — P. 22-28.

194. Nutt D.J., Malizia A.L. New insights into the role of the GABA(A)-benzodiazepine receptor in psychiatric disorder // Brit. J. Psychiatry. — 2001. — Vol. 179. — P. 390-396.

195. Nutt D.J., Ballenger J.C., Sheehan D., Wittchen H.U. Generalized anxiety disorder: comorbidity, comparative biology and treatment // Int. J. Neuropsychopharmacol. — 2002. — Vol. 5. — P. 315-325.

196. Ohl F. Testing for anxiety // Clin. Neurosci. Res. — 2003. — Vol. 3. — P. 233-238.

197. Ohl F., Roedel A., Binder E., Holsboer F. Impact of high and low anxiety on cognitive performance in a modified holeboard test in C57BL/6 and DBA/2 mice // Eur. J. Neurosci. — 2003. — Vol. 17. — P. 128-136.

198. Ohl F., Sillaber I., Binder E., Keck M.E., Holsboer F. Differential analysis of behavior and diazepam-induced alterations in C57BL/6N and BALB/c mice using the modified hole board test // J. Psychiatr. Res. — 2001. — Vol. 35. — P. 147-154.

199. Ohno H., Wada M., Saitoh J., Sunaga N., Nagai M. The effect of anxiety on postural control in humans depends on visual information processing // Neurosci. Lett. — 2004. — Vol. 364. — P. 37-39.

200. Olivier J.A., Bouwknecht T., Pattij C., Leahy R., van Oorschot, Zethof T.J. GABAA-benzodiazepine receptor complex ligands and stress-induced hyperthermia in singly housed mice // Pharmacol. Biochem. Behav. — 2002. — Vol. 72. — P. 179-188.

201. Overall K.L. Natural animal models of human psychiatry conditions: assessment of mechanisms and validity // Prog. Neuro-Psychopharm. Biol. Psych. — 2000. — Vol. 24. — P. 727-776.

202. Pardon M.C., Kendall D.A., Perez-Diaz F., Duxon M.S., Marsden C.A. Repeated sensory contact with aggressive mice rapidly leads to an anticipatory increase in core body temperature and physical activity that precedes the onset of aversive responding // Eur. J. Neurosci. — 2004. — Vol. 20. — P. 1033-1050.

203. Porsolt R.D., Le Pinchon M., Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments // Nature. — 1977. — Vol. 266. — P. 730-732.

204. Porsolt R.D., McArthur R.A., Lenegre A. Psychotropic screening procedures: In: Methods in Behavioral Pharmacology / Ed F. van Haaren. — NY.: Elsevier, 1993. — P. 23-51.

205. Porsolt R.D. Animal models of depression: utility for transgenic research // Rev. Neurosci. — 2000. — Vol. 11. — P. 53-58.

206. Powell S.B., Geyer M.A., Gallagher D., Paulus M.P. The balance between approach and avoidance behaviors in a novel object exploration paradigm in mice // Behav. Brain Res. — 2004. — Vol. 152. — P. 341-349.

207. Prut L., Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review // Eur. J. Pharmacol. — 2003. — Vol. 463. — P. 3-33.

208. Reimers M., Heilig M., Sommer W.H. Gene discovery in neuropharmacological and behavioral studies using Affymetrix microarray data // Methods. — 2005. — Vol. 37. — P. 219-228.

209. Rodgers R.J., Cole J.C. Anxiety enhancement in the murine elevated plus maze by immediate prior exposure to social stressors // Physiol. Behav. — 1993. — Vol. 53. — P. 383-388.

210. Rodgers R.J., Cole J.C. The elevated plus-maze: pharmacology, methodology and ethology: In: Ethology and Pharmacology / Eds S.J.Cooper, C.A.Hendrie, Chichester John Willey and Sons, 1994. — P. 9-44.

211. Rodgers R.J., Cole J.C., Aboualfa K., Stephenson L.H. Ethopharmacological analysis of the effects of putative «anxiogenic» agents in the mouse elevated plus maze // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1995. — Vol. 52. — P. 1-9.

212. Rodgers R.J., Johnson N.J.T. Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus maze test of anxiety // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1996. — Vol. 52. — P. 297-303.

213. Rodgers R.J., Johnson N.J.T., Cole J.C., Dewar C.V. Plus-maze retest profile in mice: importance of initial stages of trail 1 and response to post-trial cholinergic receptor blockage // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1996. — Vol. 54. — P. 41-50.

214. Rodgers R.J. Anxious genes, emerging themes // Behav. Pharmacol. — 2001. — Vol. 12. — P. 471-476.

215. D.C. Rogers, D.N. Jones, P.R. Nelson, C.M. Jones, C.A. Quilter, T.L. Robinson, J.J. Hagan. Use of SHIRPA and discriminant analysis to characterise marked differences in the behavioural phenotype of six inbred mouse strains // Behav. Brain Res. — 1999. — Vol. 105. — P. 207-217.

216. Rudrauf D., Venault P., Cohen-Salmon C., Berthoz A., Jouvent R., Chapouthier G. A new method for the assessment of spatial orientation and spatial anxiety in mice // Brain Res. Protoc. — 2004. — Vol. 13. — P. 159-165.

217. Russel W.M.S., Burch R.L. The principles of humane experimental technique. — Methuen, London, 1959. — 238 p.

218. Sandford J.J., Argyropoulos S.V., Nutt D.J. The psychobiology of anxiolytic drug. Part 1: basic neurobiology // Pharmacol. Ther. — 2000. — Vol. 88. — P. 197-212.

219. Sarter M., Bruno J.P. Animal models in biological psychiatry // Biological Psychiatry, Eds H. D'haenen, J.A. den Boer, P. Willner. Willey and Sons, New York, 2002. — P. 1-8.

220. Shibata S., Nakanishi H., Watanabe S., Ueki S. Effects of chronic administration of antidepressants on mouse-killing behavior (muricide) in olfactory bulbectomized rats // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1984. — Vol. 21. — P. 225-230.

221. Spielberger C.D. Anxiety: Current trends in theory and research. — NY.: Academic Press, 1972. — P. 34-46.

222. Spielberger C.D. Test Anxiety Inventory. Preliminary professional manual. — Palo Alto, Consulting Psychologists Press, 1980. — 67 p.

223. Steru L., Chermat R., Thierry B., Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice // Psychopharmacol. — 1985. — Vol. 85. — P. 367-370.

224. Strekalova T., Zorner B., Zacher C., Sadovska G., Herdegen T., Gass P. Memory retrieval after contextual fear conditioning induces c-Fos and JunB expression in CA1 hippocampus // Genes Brain Behav. — 2003. — Vol. 2. — P. 3-10.

225. Strekalova T., Spanagel R., Bartsch D., Henn F.A., Gass P. Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration // Neuropsychopharmacol. — 2004. — Vol. 29. — P. 2007-2017.

226. Strekalova T., Spanagel R., Dolgov O., Bartsch D. Stress-induced hyperlocomotion as a confounding factor in anxiety and depression models in mice // Behav. Pharmacol. — 2005. — Vol. 16. — P. 171-180.

227. Tejani-Butt S., Kluczynski J., Pare W.P. Strain-dependent modification of behavior following antidepressant treatment // Progr. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry — 2003. — Vol. 27. — P. 7-14.

228. Thakker D.R., Natt F., Husken D., Maier R., Muller M., van der Putten H., Hoyer D., Cryan J.F. Neurochemical and behavioral consequences of widespread gene knockdown in the adult mouse brain by using nonviral RNA interference // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2004. — Vol. 101. — P. 17270-17275.

229. Thakker D.R., Natt F., Husken D., van der Putten H., Maier R., Hoyer D., Cryan J.F. siRNA-mediated knockdown of the serotonin transporter in the adult mouse brain // Mol. Psychiatry. — 2005. — Vol. 10. — P. 782-789.

230. Ukai M., Mitsunaga H. Tail-swing behavior: a novel animal model for anxiety // Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. — 2003. — Vol. 25. — P. 355-359.

231. Urani A., Roman F.J., Phan V.L., Su T.P., Maurice T. The antidepressant-like effect induced by sigma(1)-receptor agonists and neuroactive steroids in mice submitted to the forced swimming test // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2001. — Vol. 298. — P. 1269-1279.

232. Urani A., Chourbaji S., Gass P. Mutant mouse models of depression: candidate genes and current mouse lines // Neurosci. Biobehav. Rev. — 2005. — Vol. 29. — P. 805-828.

233. Van der Meer M., Baumans V., Olivier B., Kruitwagen C.L., Van Dijk J.E., Van Zutphen L.F. Behavioral and physiological effects of biotechnology procedures used for gene targeting in mice // Physiol. Behav. — 2001. — Vol. 73. — P. 719-730.

234. Van der Stelt H.M., Breuer M.E., Olivier B., Westenberg H.G. Permanent deficits in serotonergic functioning of olfactory bulbectomized rats: an in vivo microdialysis study // Biol. Psychiatry. — 2005. — Vol. 57. — P. 1061-1067.

235. Van Praag H.M. Can stress cause depression? // World J. Biol Psychiatry. — 2005. — Vol. 6, Suppl. 2. — P. 5-22.

236. Veening J.G., Coolen L.M., de Jong T.R., Joosten H.W., de Boer S.F., Koolhaas J.M., Olivier B. Do similar neural systems subserve aggressive and sexual behaviour in male rats? Insights from c-Fos and pharmacological studies // Eur. J. Pharmacol. — 2005. — Vol. 526. — P. 226-239.

237. Venault P., Rudrauf D., Lepicard E.M., Berthoz A., Jouvent R., Chapouthier G. Balance control and posture in anxious mice improved by SSRI treatment // Neuroreport. — 2001. — Vol. 12. — P. 3091-3094.

238. Viana M.B., Tomaz C., Graeff F.G. The elevated T-maze: a new animal model of anxiety and memory // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1994. — Vol. 49. — P. 549-54.

239. Vollmayr B., Henn F.A. Learned helplessness in the rat: improvements in validity and reliability // Brain Res. Protocols — 2001. — Vol. 8. — P. 1-7.

240. Vollmayr B., Henn F.A. Stress models of depression // Clin. Neurosci. Res. — 2003. — Vol. 32. — P. 1-7.

241. Wada M., Sunaga N., Nagai M. Anxiety affects the postural sway of the antero-posterior axis in college students // Neurosci. Lett. — 2001. — Vol. 302. — P. 157-159.

242. Wahlsten D., Rustay N.R., Metten P., Crabbe J.C. In search of a better mouse test // Trends Neurosci. — 2003. — Vol. 26. — P. 132-136.

243. Wall P.M.,Messier C. Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal // Neurosci. Biobehav. Rev. — 2001. — Vol. 25. — P. 275-286.

244. Wehner J.M., Radcliffe R.A., Bowers B.J. Quantitative genetics and mouse behavior // Ann. Rev. Neurosci. — 2001. — Vol. 24. — P. 845-867.

245. Wilken J.A., Smith B.D., Tola K., Mann M. Trait anxiety and prior exposure to non-stressful stimuli: effects on psychophysiological arousal and anxiety // Int. J. Psychophysiol. — 2000. — Vol. 37. — P. 233-242.

246. Williams M.A., Turchan J., Lu Y., Nath A., Drachman D.B. Protection of human cerebral neurons from neurodegenerative insults by gene delivery of soluble tumor necrosis factor p75 receptor // Exp. Brain Res. — 2005. — Vol. 165. — P. 383-391.

247. Willner P. Animal models of stress: An overview: In: Methods in Neurosciences. Paradigms for the Study of Behavior / Ed. P.M.Conn, San Diego. — NY.: Academic Press, 1993. — P. 145-162.

248. Willner P. Animal models of depression: validity and applications // Depression and Mania. Advances in Biochemical Psychopharmacology / Eds G.L.Gessa, W.Fratta, L. Pani, G. Serra. — NY.: Raven Press, 1995. — P. 19-41.

249. Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation // Psychopharmacol. — 1997. — Vol. 134. — P. 319-329.

250. Wittchen H.U., Kessler R.C., Pfister H., Lieb M. Why do people with anxiety disorders become depressed? A prospective-longitudinal community study // Acta Psychiatr. Scand. Suppl. — 2000. — Vol. 406. — P. 14-23.

251. Wood P.A. Phenotype assessment: are you missing something? // Comp. Med. — 2000. — Vol. 50. — P. 12-15.

252. Wurbel H. Behaviour and the standardization fallacy // Nat. Genet. — 2000. — Vol. 26. — P. 263.

253. Wurbel H. Behavioral phenotyping enhanced — beyond (environmental) standardization // Genes Brain Behav. — 2002. — Vol. 1. — P. 3-8.

254. Yang M., Augustsson H., Markham C.M., Hubbard D.T., Webster D., Wall P.M., Blanchard R.J., Blanchard D.C. The rat exposure test: a model of mouse defensive behaviors // Physiol. Behav. — 2004. — Vol. 81. — P. 465-473.

255. Yilmazer-Hanke D.M., Roskoden T., Zilles K., Schwegler H. Anxiety-related behavior and densities of glutamate, GABAA, acetylcholine and serotonin receptors in the amygdala of seven inbred mouse strains // Behav. Brain Res. — 2003. — Vol. 145. — P. 145-159.

256. Yoshikawa T., Watanabe A., Ishitsuka Y., Nakaya A., Nakatani N. Identification of multiple genetic loci linked to the propensity for «behavioral despair» in mice // Genome Res. — 2002. — Vol. 12. — P. 357-366.

257. Zangossi H., File S.E. Chlordiazepoxide reduces the generalised anxiety, but not the direct responces, of rats exposed to cat odors // Pharmacol. Biochem. Behav. — 1992. — Vol. 43. — P. 1195-1200.

258. Zurlo J., Rudacille D., Goldberg A.M. Animals and Alternatives in Testing: History, Science, and Ethics. — NY.: Mary Ann Liebert, 1994. — 235 p.

259. Zurlo J., Rudacille D., Goldberg A.M. The three R's: the way forward // Environm. Health Perspect. — 1996. — Vol. 104. — P. 1-8.

Principles of experimental modeling of anxiety and depression

KALUEFF A.V.

National Institute of Mental Health, Washington, USA

Experimental models of anxiety and depression are extensively used to understand in detail the underlying stress-evoked pathogenesis in animals and humans. The present paper reviews fundamental principles, the existing models and new challenges in the field of experimental modeling of anxiety and depression spectrum disorders.

Key words: *anxiety, depression, stress, experimental models, pathogenesis*