

Ю. В. СИДОРОВА<sup>1</sup>, О. Г. ОБРАЗЦОВА<sup>1</sup>, Д. В. ЕВДОКИМОВ<sup>1</sup>,  
И. И. АБРАМЕЦ<sup>1</sup>, А. Н. ТАЛАЛАЕНКО<sup>1</sup>

## НЕЙРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ И НЕЙРОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ ПОВЕДЕНИЯ У КРЫС С ХРОНИЧЕСКИМ ВОСПАЛЕНИЕМ ТКАНЕЙ СПИНЫ

Поступила 08.10.12

В условиях экспериментального моделирования хронического асептического воспаления тканей спины у крыс наблюдали изменения поведения – существенное повышение уровней депрессивности и тревожности. Такие сдвиги проявлялись в увеличении длительности периода иммобилизации в тесте форсированного плавания и уменьшении времени пребывания животных в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта. Отмечали также нарушения выработки и воспроизведения условнорефлекторной реакции активного избегания, о чем судили по увеличению латентного периода такой реакции и количества сочетаний раздражений, необходимого для достижения ее стабильного уровня. Анализ влияния продуктов воспаления на нейроны V слоя медиальной префронтальной коры показал, что хроническое периферическое воспаление обуславливает угнетение глутаматергической синаптической передачи при параллельном увеличении амплитуды НМДА-компонентов популяционных ВПСП и снижение их чувствительности к действию неселективных (кетамин) и селективных по отношению к субъединицам NR2A (цинка сульфат), но не NR2B (галоперидол), блокаторов НМДА-рецепторов. Экспрессия и длительной потенциации, и длительной депрессии синаптической передачи угнеталась. В исследованиях на срезах гиппокампа выявлялось ослабление угнетающего влияния серотонина (но не буспирона и норадреналина) на амплитуду антидромных потенциалов действия пирамидных нейронов области CA1. Эти факты свидетельствуют об усилении процесса обратного захвата серотонина, но не норадреналина, в варикозитеты аксонов моноаминергических нейронов. На основании полученных данных выдвинуто предположение, что возрастание уровня депрессивности в условиях хронического воспаления в значительной мере обусловлено повышением функциональной активности НМДА-рецепторов и ослаблением серотонинергических влияний на кортикальные нейроны. Рост уровня тревожности животных может быть связан с ослаблением серотонинергических влияний и/или усилением функциональной активности высокопороговых кальциевых каналов L-типа. Нарушение мнестических процессов при воспалении может быть обусловлено метапластическим смещением порога индукции синаптической пластичности в связи с повышением функциональной активности НМДА-рецепторов и упомянутых кальциевых каналов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** воспаление, депрессивность, тревожность, условная реакция активного избегания, медиальная префронтальная кора, гиппокамп, популяционный ВПСП, синаптическая пластичность, серотонин, НМДА-рецепторы, потенциалзависимые кальциевые каналы.

<sup>1</sup>Донецкий национальный медицинский университет МЗ Украины (Украина).

Эл. почта: abrametz@yandex.ru (И. И. Абрамец).

## ВВЕДЕНИЕ

Заболевания, в основе которых лежит инфекционное или асептическое воспаление, встречаются достаточно часто. Развитие воспаления, т. е. повреждения тканей, вызывает активацию иммунной системы организма. В первую очередь включаются регуляторные Т-лимфоциты – Т-хелперы типа 1 (Тх1), которые повышают активность макрофагов. Последние начинают продуцировать провоспалительные цитокины – интерферон- $\gamma$ , фактор некроза опухолей  $\alpha$  (ФНО  $\alpha$ ) и интерлейкины И-1, И-2, И-6, а также другие агенты [1–3].

В свою очередь, повышение уровня провоспалительных цитокинов в мозгу нарушает деятельность нейронных ансамблей лимбических и других структур мозга, что приводит к развитию депрессивного и тревожного синдромов и нарушениям когнитивных процессов. В самом деле, у 45 % больных гепатитом С, которых лечат цитокином интерфероном- $\alpha$ , развивается депрессивный синдром, связанный с усилением экспрессии ФНО  $\alpha$  и И-6 [4].

Установлено также, что эндотоксин грамотрицательных бактерий – липополисахарид, являющийся мощным стимулятором иммунной системы организма, при системном введении грызунам угнетает исследовательскую активность, социальные взаимодействия, снижает интенсивность потребления пищи и увеличивает продолжительность сна, т. е. способствует развитию поведенческого феномена, который следует рассматривать как депрессивный [1]. Введение людям липополисахарида в дозе 2–4 нг/кг вызывает повышение температуры, слабость, головную боль, миалгии; в более низких дозах (0.8 нг/кг) эндотоксин гриппоподобных симптомов не вызывает, но в данном случае выявляется набор депрессивных симптомов [5, 6]. У пациентов с униполярной депрессией содержание провоспалительных цитокинов в плазме крови повышено при отсутствии воспалительных процессов. Введение антидепрессантов, обеспечивая редукцию депрессивных симптомов, обуславливает снижение уровней некоторых интерлейкинов, но не ФНО  $\alpha$  [7]. При этом существенно то обстоятельство, что в данной ситуации центральная и периферическая воспалительные системы действуют параллельно. Воспаление в периферических тканях у грызунов вызывает усиление экспрессии провоспалительных цитокинов в мозгу, а повышение уровня И-1 в мозгу усиливает продукцию провоспалитель-

ных цитокинов в периферических тканях [8].

В развитие воспаления вовлечены также эндопероксиды арахидоновой кислоты – простагландины E2, I2 и D2. Эти липиды образуются из арахидоновой кислоты с участием конститутивной и индуцибельной циклоксигеназ (ЦОГ-1 и ЦОГ-2 соответственно). Простагландины участвуют в генерации и передаче ноцицептивных влияний при воспалении, развитии лихорадки, в повышении проницаемости капилляров, одновременно усиливая хемотаксис лейкоцитов. В мозгу простагландин E2 через посредство рецепторов двух типов (EP2 и EP3) регулирует релейные и пластические свойства глутаматергических синапсов в коре и гиппокампе [9]. Показано, что селективный ингибитор ЦОГ-2 целекоксиб обладает выраженной клинически антидепрессивной активностью, однако ее природа не ясна [10].

Помимо прочего, накапливающиеся в мозгу провоспалительные цитокины нарушают функциональную активность моноаминергических и глутаматергических систем. Воздействуя на микроглию и макрофаги, интерфероны, интерлейкины и ФНО вызывают усиление экспрессии фермента индоламин-2,3-диоксигеназы (ИДО), который превращает триптофан в кинуренин [11]. Это приводит к тому, что часть триптофана изымается из общего кругооборота; следовательно, в мозгу снижаются уровни серотонина (5-ГТ) и мелатонина. В условиях вызванного интерфероном депрессивного синдрома уровень кинуренина в плазме крови повышается. Под влиянием антидепрессантов-ингибиторов обратного захвата 5-ГТ симптомы депрессии устраняются, но уровень кинуренина при этом не изменяется [12]. Обнаружилось также, что хроническое (в течение девяти недель) введение крысам интерферона- $\alpha$  вызывает дегенерацию норадренергических и 5-ГТ-эргических нейронов [13], а моноаминергические нейроны вовлечены в развитие депрессии.

Усиление активности ИДО способствует образованию двух метаболитов, обладающих средством по отношению к НМДА-глутаматным рецепторам. Это агонист – хинолиновая кислота – и блокатор упомянутых рецепторов – кинуреновая кислота, – которые продуцируются микроглией [14]. В данном случае воздействие провоспалительных цитокинов на микроглию приводит к увеличению соотношения количеств указанных агентов, продуцируемых клетками (хинолиновая кислота: кинуреновая кислота). Хинолиновая кислота не только активирует

НМДА-рецепторы, но и усиливает высвобождение глутамата из терминалей глутаматергических аксонов и глиальных клеток; это создает предпосылки для аномального накопления возбуждающих аминокислот во внеклеточных пространствах мозга [15].

В настоящем сообщении суммированы результаты экспериментов, в которых мы исследовали влияние хронического периферического воспаления на эмоциональные процессы и формирование и воспроизведение навыков обучения у экспериментальных животных, а также выясняли на клеточном уровне нейрофизиологические и нейрохимические механизмы нарушений, ответственных за изменения поведения в таких условиях.

## МЕТОДИКА

Исследования были выполнены на белых беспородных крысах с массой тела 150–250 г. Животные содержались в клетках по четыре–шесть особей в условиях светового режима 12/12 ч (включение света в 7.00) со свободным доступом к воде и пище. Хроническое асептическое воспаление тканей спины у крыс вызывали по методу, описанному ранее [16]. Животным под кожу спины вводили 0.5 мл 9 %-ного раствора уксусной кислоты; сразу после этого крысам внутривентриально вводили декстран в дозе 200 мг/кг. Через два-три дня в месте инъекции уксусной кислоты появлялся воспалительный инфильтрат. Об интенсивности воспалительного процесса судили по увеличению количества лейкоцитов в крови, по активации макрофагов, по размеру воспалительного инфильтрата и повышению в крови уровня С-реактивного белка. Кровь для исследований брали из хвостовой вены. К проведению поведенческих и электрофизиологических исследований приступали на пятые–седьмые сутки после введения крысам флогенов.

В поведенческих исследованиях уровень депрессивности животных определяли по общепринятой методике в тесте форсированного плавания [17]. Крысу помещали в аквариум высотой 50 см, заполненный водой на 2/3 высоты (температура воды 22–25 °С). Регистрировали длительность начального периода иммобилизации крыс в течение сеанса вынужденного плавания продолжительностью 300 с – пассивного плавания без движений конечностями; при этом передние лапы были прижаты к груди, а задние – вытянуты.

Уровень тревожности крыс определяли по характеристикам поведения в приподнятом крестообразном лабиринте [18]. Животных помещали в центральную площадку головой к открытому рукаву аппарата. В течение периода наблюдения длительностью 5 мин регистрировали время пребывания (с) животных в открытых рукавах, количество выходов в открытые рукава, количество выглядываний из открытых пространств.

Способность к обучению и сохранение следов памяти оценивали согласно характеристикам условной реакции активного избегания (УРАИ) [19]. Условным раздражением служил звук звонка, который включался за 5 с до нанесения безусловного электрошокового раздражения на лапы крысы (50 Гц, 1 мА). Избегание реализовывалось путём запрыгивания крыс на стержень, соединённый с выключателем тока, который пропускали через электроды электрифицированного пола установки. Определяли количество сочетаний условного и безусловного раздражений, необходимое для выработки стабильного условного рефлекса с минимальным латентным периодом его воспроизведения.

Электрофизиологические исследования были выполнены на срезах дорсального гиппокампа и медиальной префронтальной коры (мПФК) экспериментальных и контрольных животных. Детали метода были изложены ранее [20], поэтому здесь мы даем краткое описание. Крыс наркотизировали путем внутривентриального введения кетамина в дозе 50 мг/кг. После достижения необходимого уровня наркоза животных декапитировали, головной мозг извлекали из черепа и охлаждали раствором для препарирования (температура 4–6 °С). Дорсальный гиппокамп выделяли из заднего, а мПФК – из переднего полюса мозга. Срезы толщиной 400 мкм готовили с помощью вибратома. Далее из поперечных срезов мозга выделяли сечения мПФК и гиппокампа; указанные участки помещали в инкубационную камеру, где их суперфузировали раствором Кребса следующего состава (в миллимолях на 1 л): NaCl – 124, KCl – 3, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 1.25, NaHCO<sub>3</sub> – 26, CaCl<sub>2</sub> – 2, MgSO<sub>4</sub> – 1, глюкоза – 10. Раствор Кребса в инкубационной камере насыщали карбогеном, температуру поддерживали на уровне 25 °С, скорость протока составляла 2 мл/мин. Через 90 мин инкубации срез помещали в рабочую камеру объёмом 0.5 мл, где его суперфузировали насыщенным карбогеном раствором Кребса при температуре 28 °С; скорость протока раствора была аналогичной (2 мл/мин). Из срезов дорсального гиппокампа

удаляли область CA3. От пирамидного слоя оставшегося препарата отводили антидромные популяционные пики (ПП) пирамидных нейронов области CA1, которые вызывали электрической стимуляцией аксонов этих нейронов, проходящих в альвеолярном слое гиппокампа. От срезов мПФК отводили популяционные ВПСП (пВПСП) пирамидных нейронов V слоя, которые вызывали электрической стимуляцией нейронов II слоя. После того как амплитуда пВПСП стабилизировалась, строили кривые зависимости амплитуды пВПСП от интенсивности пресинаптической стимуляции. Стимуляцию синаптических входов к нейронам мПФК и аксонов нейронов гиппокампа осуществляли через биполярные нихромовые электроды прямоугольными толчками тока длительностью 0.1 мс.

НМДА-компонент пВПСП пирамидных нейронов коры выделяли фармакологически. Для этого срезы коры суперфузировали раствором Кребса со сниженной до 0.2 мМ концентрацией  $Mg^{2+}$  и добавлением 10 мкМ блокатора AMPA-рецепторов 6,7-динитрохиноксалин-2,3-диона (DNQX), 50 мкМ неконкурентного блокатора ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов пикротоксина и 1 мкМ коагониста НМДА-рецепторов глицина. Кроме того, исследовали две формы пластичности глутаматергических синапсов пирамидных нейронов коры – длительную потенциацию (ДП) и длительную депрессию (ДД). ДП индуцировали тетанической стимуляцией нейронов II слоя коры длительностью 1 с с частотой 100 с<sup>-1</sup>; интенсивность стимуляции подбиралась таким образом, чтобы исходная амплитуда пВПСП составляла примерно треть максимальной. ДД вызывали низкочастотной (3 с<sup>-1</sup>) тетанической стимуляцией синаптических входов продолжительностью 5 мин; интенсивность стимуляции соответствовала субмаксимальной ( $\approx 0.7$ – $0.8$  максимальной). Каждая серия опытов была выполнена на шести–девяти срезах мозга, взятых от трех–четырёх животных.

Для выяснения нейрофизиологической и нейрхимической природы наблюдаемых поведенческих и нейронных эффектов использовали следующие вещества-анализаторы: селективный ингибитор ЦОГ-2 нимесулид («Medicom», Болгария), неселективный ингибитор ЦОГ парацетамол («ICN Polipharml», Польша), ингибитор обратного захвата норадреналина и 5-ГТ имипрамин («EGYS», Венгрия), селективный ингибитор обратного захвата 5-ГТ флуоксетин (Украина), неконкурентный блокатор НМДА-рецепторов кета-

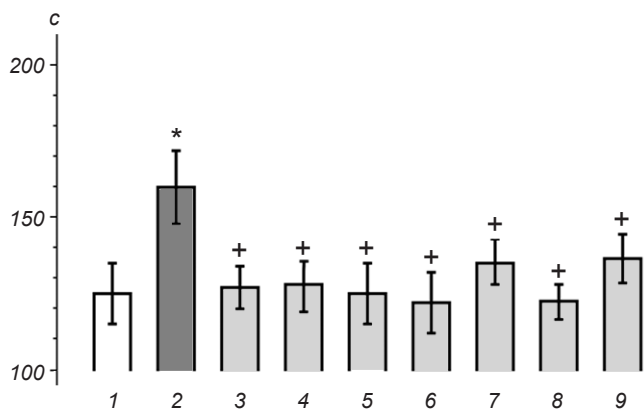
мин («Биолек», Украина), конкурентный блокатор AMPA-рецепторов DNOX («RBI», США), неконкурентный блокатор ГАМК<sub>A</sub>-рецепторов пикротоксин («Merk», ФРГ), коагонист НМДА-рецепторов глицин («Олайнфарма», Литва), блокатор потенциал-зависимых кальциевых каналов L-типа верапамил («Orion Pharma Int.», Финляндия), ингибитор тирозиновых протеинфосфатаз натрия ортованадат («Уралхимреактив», РФ).

Результаты исследований обрабатывали с применением общепринятых методов вариационной статистики, используя лицензионную программу «Medstat». Для каждой серии данных определяли среднее значение и ошибку среднего. Достоверность межгрупповых различий сравниваемых величин оценивали с помощью парного критерия *t* Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Асептическое периферическое воспаление после введения раствора уксусной кислоты и декстрана проявлялось в возникновении воспалительного инфильтрата, лейкоцитозе, активации макрофагов и повышении уровня в крови С-реактивного белка. На пятые – седьмые сутки развития хронического воспаления начинали исследовать изменения поведения, релейных и пластических функций глутаматергических синапсов коры и влияния на эти показатели веществ-анализаторов.

На фоне наличия хронического асептического воспаления наблюдалось возрастание уровня депрессивности животных, что нашло отражение в увеличении времени иммобилизации в тесте форсированного плавания (рис. 1). Средняя длительность периода иммобилизации у крыс с воспалением составляла  $158.3 \pm 6.3$  по сравнению со  $125.3 \pm 6.3$  с в контроле ( $P = 0.0012$ , парный *t*-тест). Селективный ингибитор ЦОГ-2 нимесулид, вводимый внутрь в дозе 5 мг/кг в течение семи дней, ослаблял проявления депрессивности крыс в условиях хронического воспаления, сокращая среднее время иммобилизации в указанном тесте до  $128.5 \pm 3.4$  по сравнению со  $158.3 \pm 6.3$  с ( $P = 0.0002$ ). До  $127.2 \pm 3.8$  с уменьшал время иммобилизации крыс в условиях хронического воспаления и неселективный ингибитор циклооксигеназ парацетамол (рис. 1). Антидепрессанты имипрамин и флуоксетин, вводимые в дозах 20 мг/кг внутрибрюшинно и внутрь соответственно, устраняли связанное с



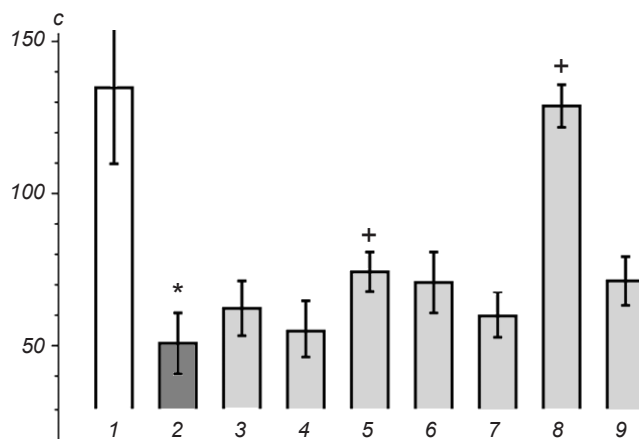
**Р и с. 1.** Увеличение длительности (с) периода иммобилизации крыс в тесте форсированного плавания в условиях наличия хронического воспаления и влияние на этот эффект веществ-анализаторов.

1 – длительность периода иммобилизации в контроле, 2 – при хроническом воспалении; 3–9 – длительность иммобилизации при наличии хронического воспаления на фоне действия 5 мг/кг нимесулида (3), 10 мг/кг парацетамола (4), 20 мг/кг имипрамина (5), 20 мг/кг флуоксетина (6), 30 мг/кг кетамина (7), 20 мг/кг верапамила (8), 15 мг/кг натрия ортованадата (9). Представлены значения средних  $\pm$  ошибка среднего; \* $P < 0.05$  при сравнении с контролем; + $P < 0.05$  при сравнении со столбцом 2 ( $n = 9$ ).

**Р и с. 1.** Збільшення тривалості (с) періоду іммобілізації щурів у тесті форсованого плавання в умовах наявності хронічного запалення і вплив на цей ефект речовин-аналізаторів.

воспалением увеличение времени иммобилизации крыс в тесте форсированного плавания (этот показатель сокращался до  $120.0 \pm 4.5$  и  $119.4 \pm 5.0$  с соответственно; рис. 1). Неконкурентный блокатор НМДА-глутаматных рецепторов кетамин, вводимый внутрибрюшинно дважды в сутки в дозе 50 мг/кг в течение пяти дней, демонстрировал подобное действие, но активность данного агента была меньшей по сравнению с таковой антидепрессантов – среднее время иммобилизации уменьшалось до  $138.9 \pm 3.2$  с (рис. 1). Ингибитор тирозиновых фосфопротеинфосфатаз натрия ортованадат, вводимый в дозе 15 мг/кг внутрибрюшинно за сутки до тестирования, действовал подобно антидепрессантам, хотя и слабее. Блокатор же потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа верапамил, вводимый внутрибрюшинно в дозе 20 мг/кг, полностью устранял вызываемое воспалением увеличение времени иммобилизации крыс в тесте форсированного плавания ( $122.1 \pm 7.2$  по сравнению со  $158.3 \pm 6.3$  с,  $P = 0.00013$ ; рис. 1).

В условиях наличия хронического воспаления



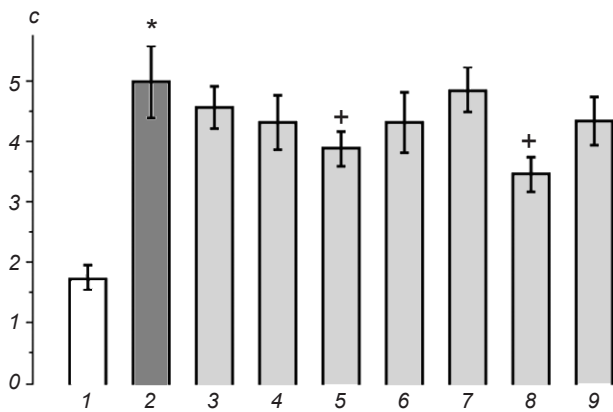
**Р и с. 2.** Уменьшение времени пребывания (с) крыс в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта при хроническом воспалении и влияние на этот эффект веществ-анализаторов.

Обозначения те же, что и на рис. 1.

**Р и с. 2.** Зменшення часу перебування (с) щурів у відкритих рукавах піднятого хрестоподібного лабіринту при хронічному запаленні і вплив на цей ефект речовин-аналізаторів.

наблюдалось отчетливое увеличение тревожности животных. Об этом свидетельствовало значительное уменьшение времени пребывания крыс в открытых рукавах приподнятого крестообразного лабиринта (в среднем  $136.3 \pm 25.2$  с в контроле и  $50.6 \pm 3.7$  с у крыс с воспалением,  $P = 0.0001$ ; рис. 2). Становилось меньше и количество переходов из закрытых в открытые рукава лабиринта (не иллюстрировано) –  $5.3 \pm 0.6$  в контроле и  $2.9 \pm 0.5$  в экспериментальной группе ( $P = 0.0001$ ). Почти все исследуемые агенты, кроме верапамила и (в меньшей степени) имипрамина, не вызывали достоверных изменений времени пребывания крыс в открытых рукавах крестообразного лабиринта (рис. 2). Верапамил практически полностью, а имипрамин частично устраняли сокращение времени пребывания крыс в открытых рукавах, обусловленное воспалением. Средние значения данного показателя после введения этих агентов составляли  $122.1 \pm 5.4$  и  $73.7 \pm 4.1$  с (значение без их введения –  $50.6 \pm 3.7$  с,  $P = 0.0001$  и  $P = 0.001$  соответственно). В то же время все исследуемые вещества, кроме кетамина, статистически достоверно увеличивали количество переходов в рукавах лабиринта, сниженное под влиянием экспериментального хронического воспаления (не иллюстрировано).

Хроническое воспаление обуславливало нарушение формирования и воспроизведения навыков обучения. Как следует из рис. 3, в этих условиях



**Р и с. 3.** Увеличение латентного периода (с) условной реакции активного избегания при хроническом воспалении и влияние на этот эффект веществ-анализаторов. Обозначения те же, что и на рис. 1.

**Р и с. 3.** Збільшення латентного періоду (с) умовної реакції пасивного уникання при хронічному запаленні і вплив на цей ефект речовин-аналізаторів.

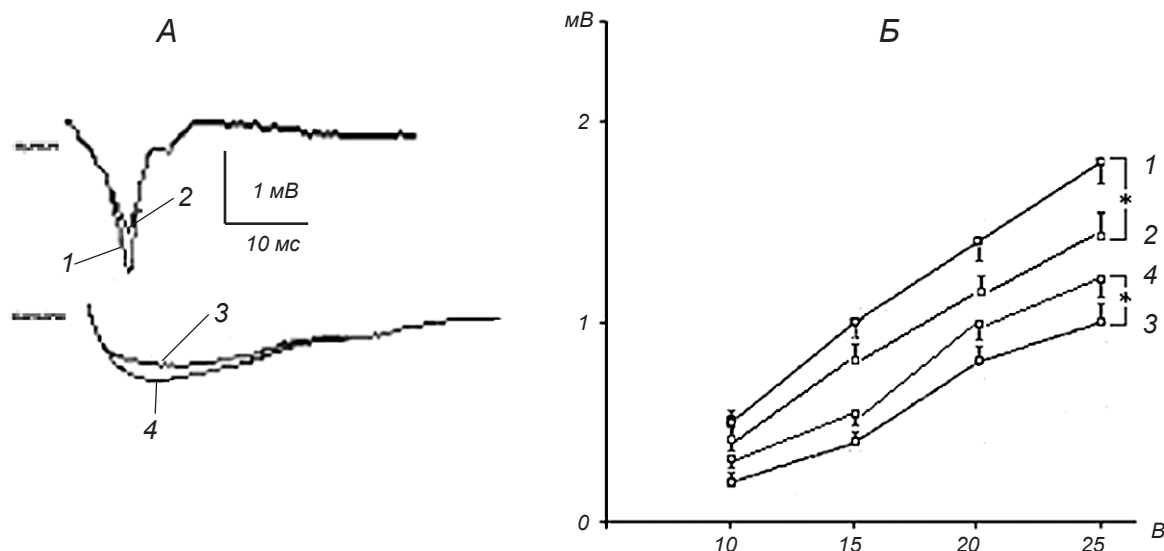
латентный период реализации УРАИ был гораздо продолжительнее, чем в контроле ( $5.00 \pm 0.27$  и  $1.75 \pm 0.25$  с соответственно,  $P = 0.0003$ ). Количество же сочетаний условного и безусловного раздражений, необходимое для выработки устойчивой УРАИ с минимальным латентным периодом, становилось значительно большим ( $10.3 \pm 0.4$  в условиях хронического воспаления по сравнению с  $7.6 \pm 0.4$  в контроле,  $P = 0.047$ ). Исследуемые вещества-анализаторы, кроме имипрамина и верапамила, не вызывали статистически значимых изменений величины латентного периода УРАИ на фоне хронического воспаления (рис. 3). Латентный период УРАИ в случаях введения имипрамина и верапамила составлял в среднем  $4.13 \pm 0.2$  и  $3.95 \pm 0.2$  с по сравнению с  $5.00 \pm 0.2$  с ( $P = 0.045$ ). На фоне наличия воспаления все исследуемые вещества сокращали увеличенное количество сочетаний раздражений, необходимое для выработки устойчивой УРАИ, примерно на два.

Следует полагать, что наблюдаемые на фоне хронического периферического воспаления возрастание уровней депрессивности и тревожности, а также явные мнемотропные нарушения обусловлены изменениями функциональной активности нейронных ансамблей, в первую очередь лимбических структур мозга. Представляется вероятным, что эти изменения вызваны воздействием продуктов воспалительной реакции – простагландинов, лейкотриенов, фрагментов мембран по-

гибших клеток, провоспалительных цитокинов. Вполне допустимо, что эти вещества, активируя нейронные мембранные рецепторы, могут изменять фундаментальные параметры жизнедеятельности нейронов – величину постсинаптических потенциалов (эффективность синаптической передачи) и пороги генерации потенциалов действия – ПД (возбудимость).

В исследованиях *in vitro* на срезах мПФК мы выявили характерное для условий развития воспалительной реакции организма снижение эффективности базальной глутаматергической передачи в синапсах, образованных на дендритных шипиках пирамидных нейронов V слоя терминалями аксонов нейронов II слоя данной структуры. Как следует из рис. 4, на фоне воспаления наблюдалось снижение наклона кривой, отражающей зависимость амплитуд пВПСП от интенсивности пресинаптической стимуляции,  $-0.64 \pm 0.04$  по сравнению с  $0.86 \pm 0.06$  в контроле ( $P = 0.02$ ). Феномен ослабления базальной синаптической передачи в гиппокампе отмечали и другие исследователи [21]. Генерация глутаматергических ВПСП в нейронах коры и гиппокампа опосредована активацией ионофорных AMPA- и НМДА-рецепторов [22]. Поэтому вполне допустимо, что ослабление базальной синаптической передачи обусловлено снижением активности таких рецепторов. Однако, как видно из рис. 4, амплитуда фармакологически изолированного НМДА-компонента пВПСП пирамидных нейронов V слоя коры в условиях воспаления не падала, а возрастала. Наклон кривой зависимости амплитуды НМДА-компонента пВПСП от интенсивности пресинаптической стимуляции в условиях хронического воспаления был больше такового в контроле –  $0.51 \pm 0.03$  по сравнению с  $0.36 \pm 0.03$  ( $P = 0.04$ ). Снижение амплитуд ВПСП пирамидных нейронов, наблюдаемое в условиях хронического воспаления параллельно с одновременным увеличением НМДА-компонентов этих ВПСП, может быть либо следствием шунтирования токов, опосредуемых активацией AMPA-рецепторов [23], либо проявлением гомосинаптической пластичности [24]. Причина возрастания амплитуды НМДА-компонентов ВПСП, связанного с наличием воспаления, пока остается не ясной.

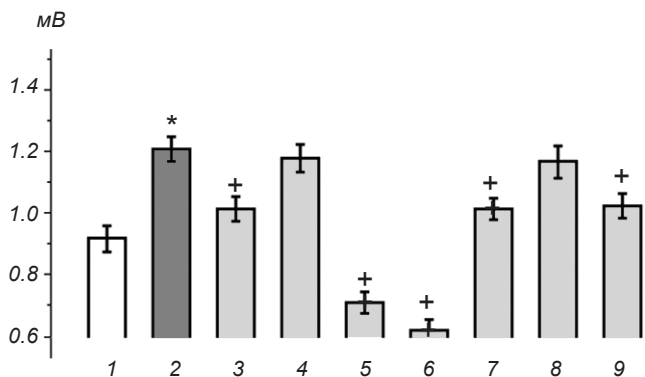
Наблюдаемое при хроническом воспалении увеличение максимальной амплитуды НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов коры ( $1.21 \pm 0.04$  по сравнению с  $0.92 \pm 0.04$  мВ в контроле,  $P = 0.01$ ) частично устранялось нимулидом



**Р и с. 4.** Снижение амплитуды популяционных ВПСП (пВПСП) пирамидных нейронов V слоя медиальной префронтальной коры и увеличение их НМДА-компонента в условиях хронического воспаления.

A – образцы максимальных пВПСП пирамидных нейронов (верхние записи) и их НМДА-компонентов (нижние записи) в контрольных условиях (1 и 3) и на фоне наличия воспаления (2 и 4). Б – графики зависимости средних амплитуд пВПСП и их НМДА-компонентов от интенсивности пресинаптической стимуляции в контроле (1 и 3) и на фоне наличия воспаления (2 и 4). Сопротивление раздражающего электрода 200 кОм;  $n = 12$  (контроль) и 9 (при воспалении). \* $P < 0.05$  при указанных сравнениях.

**Р и с. 4.** Зниження амплітуд популяційних ЗПСР пірамідних нейронів V шару медіальної префронтальної кори і збільшення їх НМДА-компонента в умовах хронічного запалення.



**Р и с. 5.** Увеличение амплитуд НМДА-компонентов популяционных ВПСП (пВПСП) пирамидных нейронов V слоя медиальной префронтальной коры при хроническом воспалении и влияние на этот эффект веществ-анализаторов.

1 – средняя максимальная амплитуда НМДА-компонента пВПСП в контроле, 2 – при наличии хронического воспаления; 3–9 – средняя максимальная амплитуда НМДА-компонента при хроническом воспалении на фоне действия 5 мг/кг нимесулида (3), 10 мг/кг парацетамола (4), 20 мг/кг имипрамина (5), 20 мг/кг флуоксетина (6), 30 мг/кг кетамина (7), 20 мг/кг верапамила (8) и 15 мг/кг натрия ортованадата (9). Обозначения те же, что и на рис. 1–3.

**Р и с. 5.** Збільшення амплітуд НМДА-компонентів популяційних ЗПСР пірамідних нейронів V шару медіальної префронтальної кори при хронічному запаленні і вплив на цей ефект речовин-аналізаторів.

(после воздействия –  $1.07 \pm 0.03$  мВ), но не парацетамол (рис. 5). Антидепрессанты имипрамин и флуоксетин в условиях наличия хронического воспаления уменьшали амплитуду НМДА-компонентов пВПСП, которая становилась даже ниже контрольного уровня, –  $0.71 \pm 0.03$  и  $0.62 \pm 0.03$  мВ соответственно по сравнению с  $0.92 \pm 0.04$  мВ,  $P = 0.03$  и  $0.02$ ). Кетамин и натрия ортованадат заметно снижали увеличенные при воспалении амплитуды НМДА-компонентов пВПСП в исследуемых нейронах –  $1.02 \pm 0.04$  и  $0.96 \pm 0.04$  мВ соответственно по сравнению с  $1.21 \pm 0.04$  мВ. Блокатор потенциал-зависимых кальциевых каналов L-типа верапамил на исследуемый показатель влияния почти не оказывал (рис. 5). На фоне хронического воспаления НМДА компоненты пВПСП пирамидных нейронов коры претерпевали не только количественные, но и качественные изменения – менялась их фармакологическая чувствительность. Действительно, как следует из табл. 1, неселективный (влияющий на рецепторы различной субъединичной композиции) блокатор НМДА-рецепторов кетамин в условиях наличия хронического воспаления слабее угнетал НМДА-компоненты пВПСП пирамидных нейронов

**Т а б л и ц а 1. Изменения фармакологической чувствительности НМДА-компонентов популяционных ВПСР (пВПСР) пирамидных нейронов медиальной префронтальной коры в условиях хронического воспаления**
**Т а б л и ц я 1. Зміни фармакологічної чутливості НМДА-компонентів популяційних ЗПСР пірамідних нейронів медіальної префронтальної кори в умовах хронічного запалення**

Условия эксперимента	Относительная степень угнетения НМДА-компонента пВПСР, %				
	кетамином (30 мкМ)	ZnSO <sub>4</sub> (10 мкМ)	галоперидолом (5 мкМ)	клофелином (20 мкМ)	буспироном (20 мкМ)
Контроль	51.3 ± 5.5	35.4 ± 3.7	31.3 ± 3.8	62.3 ± 7.7	56.1 ± 7.2
Хроническое воспаление	36.7 ± 4.3*	24.4 ± 2.6*	27.8 ± 4.2	48.4 ± 7.1*	35.3 ± 5.6*

П р и м е ч а н и я. В каждом столбце представлены значения нормированных средних ± доверительный интервал (%) при  $P = 0.05$ . Звездочками указаны случаи статистически достоверных отличий от контроля при  $P < 0.05$ .

мПФК по сравнению с контролем. Подобное соотношение наблюдали и при использовании цинка сульфата – блокатора, относительно селективного в отношении НМДА-рецепторов субъединичной композиции NR1/NR2A (табл. 1). В то же время галоперидол – блокатор, селективный в отношении содержащих NR2B-субъединицу НМДА-рецепторов, почти в одинаковой степени угнетал НМДА-компоненты пВПСР в условиях и контроля, и наличия воспалительного процесса. Агонист негативно связанных с аденилатциклазой альфа2-адренорецепторов клофелин и агонист 5-ГТ 1A-рецепторов буспирон на фоне хронического воспаления слабее угнетали НМДА-компоненты пВПСР пирамидных нейронов мПФК, причем у буспирона такое различие было более выраженным (табл. 1).

Увеличение амплитуды НМДА-компонентов пВПСР может быть следствием по крайней мере двух причин. Во-первых, это может обуславливаться усилением экзоцитоза и/или увеличением количества НМДА-рецепторов в постсинаптических уплотнениях. Во-вторых, наблюдаемый

эффект может быть связан с изменением хемосенситивности НМДА-рецепторов вследствие фосфорилирования внутриклеточных доменов субъединиц НМДА-рецепторов серин-треониновыми и/или тирозиновыми протеинкиназами. Экзоцитоз постсинаптических НМДА-рецепторов, помимо прочих факторов, регулируется моноаминами. Действительно, норадреналин и 5-ГТ, активируя альфа-адрено- и 5-ГТ1A-рецепторы, препятствуют экзоцитозу и уменьшают количество содержащих NR2B-субъединицу НМДА-рецепторов в постсинаптических уплотнениях [25, 26].

В условиях наличия хронического периферического воспаления нарушается активность моноаминергических систем мозга. Мы исследовали этот феномен на срезах гиппокампа в связи с тем, что в пирамидных нейронах области CA1 гиппокампа легко воспроизводятся антидромные ПД. Их генерация нарушается на фоне гиперполяризации, обусловленной активацией адрено- и 5-ГТ-рецепторов, которые через Gi-белки управляют калиевой проводимостью мембран нейронов [27, 28]. Как вид-

**Т а б л и ц а 2. Влияние серотонина (5-ГТ), норадреналина и буспирона на амплитуду массовых потенциалов действия (ПД) пирамидных нейронов области CA1 в контроле и на фоне наличия хронического воспаления**
**Т а б л и ц я 2. Вплив серотоніну, норадреналіну та буспірону на амплітуду масових потенціалів дії пірамідних нейронів ділянки CA1 у контролі та на тлі наявності хронічного запалення**

Условия эксперимента	Угнетение амплитуды ПД (%) вызываемое		
	5-ГТ (30 мкМ)	норадреналином (30 мкМ)	буспироном (30 мкМ)
Контроль	67.4 ± 6.2	41.4 ± 4.2	39.4 ± 3.3
Хроническое воспаление	36.7 ± 4.1*	43.1 ± 4.1	51.5 ± 4.7*

П р и м е ч а н и е. Обозначения те же, что и в табл. 1.

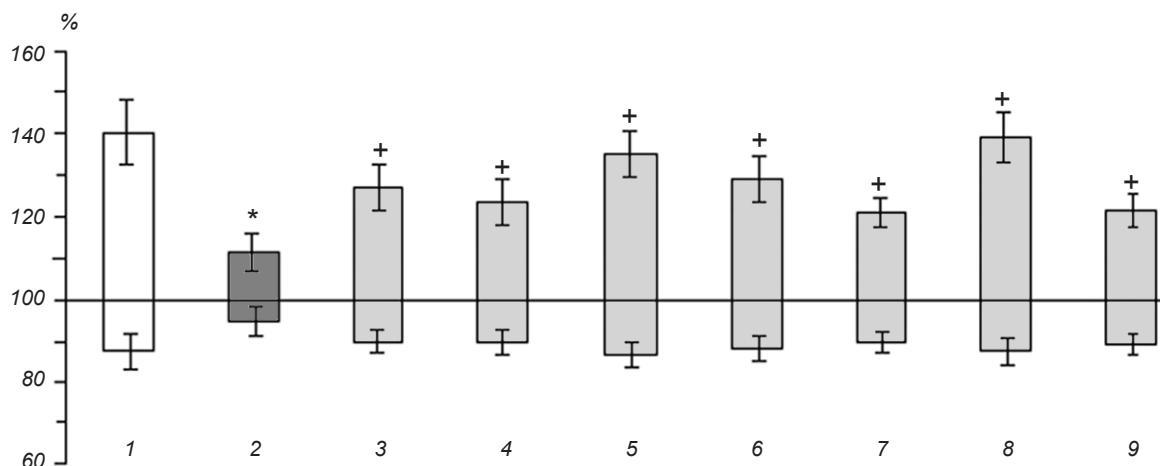


но из табл. 2, как серотониномиметик буспирон (агонист 5-ГТ1А-рецепторов), так и норадреналин снижали амплитуду массовых ПД пирамидных нейронов области СА1 гиппокампа в контроле. В условиях же воспаления угнетающее действие 5-ГТ, но не норадреналина ослаблялось, а эффекты буспилона даже усиливались. Следовательно, при воспалении изменяются и постсинаптическая рецепция, и метаболический оборот 5-ГТ. Буспирон, который в отличие от 5-ГТ не подвергается обратному захвату, значительно угнетает возбудимость пирамидных нейронов гиппокампа, действуя постсинаптически. В то же время ослабление эффектов 5-ГТ связано не с постсинаптическими, а с пресинаптическими влияниями, обусловленными наличием периферического воспаления. В исследованиях на культивируемых нейронах и синапсах было установлено, что провоспалительные цитокины стимулируют обратный захват 5-ГТ в везикулы 5-ГТ-эргических нервных волокон [29]. В связи с этим можно думать, что ослабление эффектов 5-ГТ является следствием понижения концентрации данного моноамина во внеклеточных пространствах мозга вблизи хемочувствительных мембран нейронов из-за усиления его обратного захвата. В гиппокампе в отличие от мПФК это, очевидно, вызывает позитивную (ап-) регуляцию постсинаптических 5-ГТ-1А-рецепторов и может быть причиной усиления

эффектов буспилона (табл. 2). Активность же норадренергической модулирующей системы мозга в условиях воспаления существенных изменений не претерпевала (табл. 2).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, гипофункция 5-ГТ-эргической системы мозга может быть основной причиной усиления экзоцитоза и увеличения количества НМДА-рецепторов в постсинаптических уплотнениях. Если это так, то на фоне воспаления действительно должно наблюдаться ослабление эффектов блокаторов НМДА-рецепторов. Этому, однако, противоречит то обстоятельство, что блокатор содержащих NR2A-субъединицу НМДА-рецепторов цинка сульфат действует подобно кетамину, а «предпочитающий» NR2B-субъединицу галоперидол действует почти одинаково и на фоне, и в отсутствие воспаления (табл. 1). Такой паттерн эффектов блокаторов НМДА-рецепторов возможен в том случае, если хемосенситивность НМДА-рецепторов повышается вследствие их фосфорилирования. Наблюдаемое при воспалении увеличение ответов нейронов, опосредуемых активацией НМДА-рецепторов, может оказаться следствием фосфорилирования субъединиц, формирующих данные рецепторы.



**Р и с. 6.** Угнетение экспрессии длительной потенциации (ДП) и длительной депрессии (ДД) синаптической передачи в медиальной префронтальной коре при хроническом воспалении и влияние на этот эффект веществ-анализаторов.

По вертикали – относительные изменения амплитуд популяционных ВПСП, %. Отклонения вверх соответствуют ДП, вниз – ДД синаптической передачи. Остальные обозначения те же, что и на рис. 5.

**Р и с. 6.** Пригнічення експресії тривалої потенціалії та тривалої депресії синаптичної передачі в медіальній префронтальній корі при хронічному запаленні і вплив на цей ефект речовин-аналізаторів.

Это может быть тирозинкиназное фосфорилирование, вызываемое провоспалительными цитокинами, а также фосфорилирование остатков серина или треонина в структуре НМДА-рецепторов, индуцируемое простагландинами [9, 30]. Представляется наиболее вероятным, что наблюдаемое в условиях воспаления увеличение амплитуд НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов мПФК обусловлено как увеличением плотности постсинаптических НМДА-рецепторов, так и повышением их хемосенситивности.

Изменение функциональной активности нейронных НМДА-рецепторов может быть причиной нарушения НМДА-зависимых форм синаптической пластичности в мПФК. В самом деле, судя по данным, представленным на рис. 6, на фоне хронического воспаления наблюдается угнетение экспрессии ДП синаптической передачи; измерения проводили на 30-й мин после тетанической стимуляции ДП ( $113.2 \pm 4.4$  по сравнению со  $142.5 \pm 7.1$  % в контроле,  $P < 0.05$ ;  $n = 5$ ). Параллельно подавлялась и ДД синаптической передачи ( $95.6 \pm 5.0$  по сравнению с  $83.1 \pm 4.1$  % в контроле,  $P < 0.05$ ;  $n = 5$ ). Ингибиторы ЦОГ нимулид и парацетамол частично, а антидепрессанты имипрамин и флуоксетин практически полностью устраняли вызываемые хроническим воспалением нарушения основных форм синаптической пластичности пирамидных нейронов мПФК (рис. 6). Кетамин в данном аспекте обладал меньшей эффективностью, чем ингибиторы ЦОГ и антидепрессанты (рис. 6). Эффективность натрия ортованадата была сравнима с таковой кетамина, в то время как верапамил достаточно существенно восстанавливал как ДП, так и ДД синаптической передачи, нарушенные воспалением (рис. 6). Необходимо отметить, что ДП синаптической передачи на фоне хронического воспаления интенсивнее развивается при увеличении частоты пресинаптической стимуляции. Действительно, если аксонные терминалы нейронов II слоя стимулировали с частотой  $200 \text{ с}^{-1}$ , то на 30-й мин после такой стимуляции амплитуда пВПСП пирамидных нейронов достигала  $135.4 \pm 6.7$  % (не иллюстрировано). На первый взгляд, кажется, что в основе наблюдаемых изменений синаптической пластичности в условиях хронического воспаления должно лежать изменение функциональной активности нейронных НМДА-рецепторов. Если сопоставлять изменения амплитуд НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов и экспрессии ДП и ДД синаптической передачи (рис. 5; 6), то между данными сдвигами обнаружи-

вается четкая обратная корреляция. Такая ситуация, однако, противоречит здравому смыслу. Поскольку наблюдаемые формы синаптической пластичности являются НМДА-зависимыми, то в связи с повышением активности НМДА-рецепторов должно было бы происходить усиление экспрессии как ДП, так и ДД синаптической передачи. В самом деле, у трансгенных мышей с избыточной экспрессией НМДА-рецепторов наблюдали усиление экспрессии ДП, а у мышей с делецией этих рецепторов отмечалось нарушение такой экспрессии в гиппокампе [31, 32]. С другой стороны, умеренное (4–6 ч) лишение мышей сна обуславливало в пирамидных нейронах области *CA1* гиппокампа увеличение количества содержащих NR2A-субъединицу НМДА-рецепторов, возрастание амплитуд НМДА-компонентов ВПСТ и нарушение экспрессии ДП синаптической передачи [33]. Цитируемые авторы связывают наблюдаемые изменения со смещением вправо кривой метапластичности. В ранее выполненных в нашей лаборатории исследованиях мы обнаружили, что на фоне резерпиновой поведенческой депрессии у крыс амплитуда НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов области *CA1* возрастала за счет увеличения количества рецепторов, содержащих в себе NR2A-субъединицу; экспрессия ДП затруднялась, но при этом отмечалось облегчение развития ДД синаптической передачи за счет сдвига вправо кривой метапластичности [20]. Поскольку возросшие на фоне хронического воспаления НМДА-компоненты пВПСП кортикальных нейронов были менее чувствительны к блокирующему действию ионов цинка (табл. 1), можно думать, что наблюдаемый эффект обусловлен возрастанием количества и/или хемосенситивности содержащих NR2A-субъединицу НМДА-рецепторов и что это вызывает смещение кривой зависимости экспрессии ДП от параметров стимуляции в сторону более высоких частот. Представляется наиболее вероятным, что наблюдаемое угнетение развития ДД синаптической передачи, происходящее вместо ожидаемого облегчения (рис. 6), связано с развитием хемоиндуцируемой ДД под влиянием продуктов воспаления (рис. 4). Это вызывает окклюзию тетаанусиндуцируемой ДД синаптической передачи. Было обнаружено, что воздействие на срезы гиппокампа II-1 $\beta$  вызывает развитие ДД синаптической передачи, на фоне которой низкочастотная стимуляция перестает приводить к развитию депрессии [34, 35]. Подобная ситуация наблюдается также при воздействии на срезы мозга инсулином [36]. Лю-

бопытно, что важным общим звеном процессов трансдукции в условиях активации инсулиновых и интерлейкиновых рецепторов является тирозинкиназное фосфорилирование субстратов [37, 38].

Природа повышения уровня депрессивности (увеличения времени иммобилизации в тесте вынужденного плавания) у крыс с хроническим воспалением не вполне ясна. Поскольку такое повышение/увеличение устраняется антидепрессантами (рис. 1), можно думать, что уровень депрессивности определяется дефицитом 5-ГТ и/или норадреналина. В то же время природа антииммобилизационных эффектов нимулида и парацетамола затруднительна для понимания. Установлено, что в мозгу присутствуют ЦОГ-1 и ЦОГ-2 [9], обеспечивающие синтез простагландинов. Однако данные о влиянии простагландинов на эмоционально-мотивационные процессы крайне скудны и противоречивы. Тем не менее имеются сведения о том, что простагландины способствуют фосфорилированию остатков серина в структуре NR2-субъединиц НМДА-рецепторов, а селективный ингибитор ЦОГ-2 целекоксиб усиливает терапевтическое действие антидепрессанта ребоксетина [9, 10]. Иными словами, ингибиторы ЦОГ имеют какое-то отношение к глутаматергической системе и обмену моноаминов в мозгу. Повышение уровня депрессивности у крыс с хроническим воспалением может быть также следствием нарушения глутаматергической синаптической передачи в мПФК.

То, что на фоне воспаления амплитуда НМДА-компонентов пВПСП пирамидных нейронов коры возрастает (рис. 4; 5), может быть обусловлено воздействием провоспалительных цитокинов. Установлено, что рецепторы интерлейкинов (IL-1RI) в мозгу локализованы в мембранах дендритных шипиков совместно с NR2-субъединицами НМДА-рецепторов. При воздействии IL-1 $\beta$  на культивируемые нейроны или срезы гиппокампа наблюдали усиление фосфорилирования остатков тирозина в структуре NR1- и NR2-субъединиц и увеличение трансмембранных токов при активации НМДА-рецепторов [39, 40].

Что же важнее для развития депрессивного синдрома в условиях воспаления – дефицитность 5-ГТ-эргической системы мозга или избыточная функциональная активность НМДА-рецепторов? Прямой ответ на этот вопрос пока отсутствует. С одной стороны, ингибиторы ЦОГ и антидепрессанты приблизительно в одинаковой степени противодействуют увеличению времени иммобилизации в

тесте форсированного плавания, а блокатор НМДА-рецепторов кетамин заметно уступает им в аспекте подобной активности (рис. 1). С другой стороны, ингибиторы ЦОГ сильнее (по сравнению с антидепрессантами) противодействуют возрастанию амплитуд НМДА-компонентов пВПСП на фоне хронического воспаления, а кетамин в данной ситуации действует слабее других тестируемых веществ (рис. 4). Тем не менее, создается впечатление, что наблюдаемый при хроническом воспалении депрессивный синдром скорее является следствием усиления активности НМДА-рецепторов. Это подтверждается тем, что на фоне подобного воспаления чувствительность НМДА-рецепторов к воздействию веществ, снижающих их функциональную активность, уменьшается (табл. 1). Кроме того, фосфорилирование остатка тирозина 1325 в структуре NR2A-субъединицы НМДА-рецепторов повышает уровень депрессивности животных, а у мышей с делецией указанной субъединицы НМДА-рецепторов уровень депрессивности существенно снижен, а метаболический оборот 5-ГТ и дофамина – усилен [32, 41]. Наконец, в условиях хронического воспаления снижение чувствительности НМДА-компонента пВПСП пирамидных нейронов мПФК отмечается при действии блокатора, селективного по отношению к NR2A-, но не к NR2B-субъединице (табл. 1).

Возрастание уровня тревожности у крыс с хроническим воспалением (о чем свидетельствует уменьшение времени пребывания животных в открытых рукавах крестообразного лабиринта) имеет иную нейрохимическую природу. На это указывает тот факт, что большинство тестируемых веществ, кроме антидепрессантов и верапамила, не препятствовали развитию данного поведенческого эффекта (рис. 2). Очевидно, что анксиогенное влияние периферического хронического воспаления не связано с повышением функциональной активности НМДА-рецепторов. Возрастание уровня тревожности также не связано напрямую и с повышением активности ЦОГ и накоплением простагландинов. С другой стороны, ингибиторы ЦОГ, хотя и уменьшают образование простагландинов, при этом либо не изменяют, либо даже усиливают экспрессию провоспалительных цитокинов [42]. То, что имипрамин и (в большей степени) флуоксетин устраняли повышение уровня тревожности у крыс с хроническим воспалением, наводит на мысль о вовлеченности в рассматриваемый поведенческий эффект 5-ГТ-эргической системы мозга.

Влияние 5-ГТ-эргических нейронов на эмоциональные лимбические структуры мозга опосредовано активацией главным образом 5-ГТ1А- и 5-ГТ2-рецепторов; 5-ГТ3-рецепторы вовлечены в меньшей степени. Постсинаптические 5-ГТ1А-рецепторы при их активации повышают калиевую проводимость мембран и угнетают генерацию ПД в нейронах (табл. 2). Активация постсинаптических 5-ГТ2-рецепторов повышает возбудимость нейронов, а активация подобных пресинаптических рецепторов усиливает высвобождение медиаторов [43]. Интересно, что у мышей с генетической делецией 5-ГТ1А-рецепторов обнаруживались снижение уровня депрессивности и (одновременно) повышение тревожности, причем первый из упомянутых поведенческих эффектов связывают с отсутствием постсинаптических, а второй – с устранением пресинаптических 5-ГТ1А-рецепторов [44]. Следовательно, 5-ГТ-эргические влияния на лимбические структуры мозга, опосредуемые активацией 5-ГТ1А-рецепторов, в обычных условиях являются анксиолитическими. Как следует из табл. 2, в условиях хронического воспаления усиливается обратный захват 5-ГТ в гиппокампе; следовательно, концентрация данного моноамина во внеклеточных пространствах лимбических структур мозга снижается, а 5-ГТ-эргические влияния ослабевают. Однако в этих условиях наряду с возрастанием степени тревожности должно происходить снижение, а не наблюдаемое возрастание уровня депрессивности (рис. 1; 2). Но ослабление 5-ГТ-эргических влияний на кортикальные нейроны приводит к возрастанию функциональной активности НМДА-рецепторов за счет накопления кинуренинового метаболита (хинолиновой кислоты) и увеличения плотности данной популяции рецепторов в постсинаптических мембранах. Последний механизм для развития депрессивного синдрома является ведущим, но для генеза тревожного синдрома – лишь вспомогательным, поскольку кетамин не оказывает на последний достоверного влияния (рис. 2). Анксиолитическая активность блокаторов потенциалзависимых кальциевых каналов, в том числе верапамила (рис. 2), является установленным фактом [45], однако нейрхимическая природа этого феномена окончательно не выяснена.

Мнемотропные нарушения, развивающиеся на фоне хронического воспаления, проявляются в увеличении латентного периода выработанной УРАИ и (в меньшей степени) в возрастании количества сочетаний раздражений, необходимого для полу-

чения стабильной реакции (рис. 3). Подобные данные указывают на то, что процесс реконсолидации уже существующей в мозгу информации нарушается в большей степени, а процесс ее формирования на нейронных носителях (консолидации) – в меньшей. Считают, что в нейрхимическом аспекте процессы консолидации и реконсолидации информации весьма сходны [46]. Существенно, что все тестированные агенты, кроме верапамила и (в меньшей степени) имипрамина, не оказывали достоверного влияния на увеличенный в условиях воспаления латентный период УРАИ (рис. 3). С другой стороны, все вещества-анализаторы ослабляли вызываемые воспалением нарушения экспрессии и ДП, и ДД синаптической передачи в мПФК (рис. 6). Эти же вещества снижали необходимое для стабильного воспроизведения УРАИ количество сочетаний условного и безусловного раздражений. Остается, однако, неясным, почему только верапамил и имипрамин в определенной степени устраняют вызываемое воспалением увеличение латентного периода УРАИ. Что же касается имипрамина, то он способствует накоплению во внеклеточных пространствах мозга не только 5-ГТ (как и флуоксетин), но и норадреналина, т. е. имипрамин должен усиливать влияние норадренергических нейронов голубого пятна на лимбические структуры мозга. В свою очередь, активация голубого пятна способствует поддержанию внимания и более легкому воспроизведению следов памяти; в частности, такая активация облегчает распознавание относительно слабых запахов [47, 48]. Влияние блокаторов потенциалзависимых кальциевых каналов, к числу которых относится верапамил, на синаптическую пластичность в гиппокампе и коре, а также память весьма сложно. Во-первых, продукты воспаления (интерлейкины) усиливают фосфорилирование остатков тирозина в структуре потенциалзависимых кальциевых каналов L-типа и повышают функциональную активность последних; во-вторых, усиление секреции глюкокортикоидов при воспалении приводит к повышению экспрессии данной популяции ионных каналов в мембранах нейронов [30, 49, 50]. Усиление функциональной активности потенциалзависимых кальциевых каналов обуславливает более интенсивное поступление  $Ca^{2+}$  в цитоплазму нейронов. Это, в свою очередь, вызывает увеличение амплитуды кальцийактивируемых калиевых токов, которые наиболее ярко проявляются в виде тока медленной постимпульсной гиперполяризации – IАНР. Усиление IАНР в условиях хро-

нического воспаления приводит к снижению частоты генерации ПД. С другой стороны, увеличение соответствующей проводимости шунтирует (при усилении магниевого блока) индуцируемые активацией НМДА-рецепторов трансмембранные токи и, следовательно, ослабляет их [51]. Уменьшение частоты генерации ПД высокочастотными ГАМК-эргическими интернейронами в лимбических структурах может быть одной из причин ослабления торможения и смещения активности данных структур в анксиогенном направлении (рис. 2). С другой стороны, усиление магниевого блокирования ионных каналов НМДА-рецепторов в условиях гиперполяризации нейронов коры и гиппокампа ограничивает поступление  $Ca^{2+}$  в цитоплазму дендритных шипиков в ходе повторяющейся стимуляции нейронов и ослабляет экспрессию ДП и ДД синаптической передачи (рис. 6), а также, соответственно, формирование и воспроизведение навыков обучения (рис. 3).

Исследования были выполнены в соответствии с требованиями комиссии по биоэтике Донецкого национального медицинского университета МЗ Украины и положениями Международной конвенции по защите животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1985).

Авторы – Ю. В. Сидорова, О. Г. Образцова, Д. В. Евдокимов, И. И. Абрамец, А. Н. Талалаенко – подтверждают отсутствие между ними конфликта интересов.

Ю. В. Сидорова<sup>1</sup>, О. Г. Образцова<sup>1</sup>, Д. В. Евдокимов<sup>1</sup>,  
И. И. Абрамец<sup>1</sup>, А. М. Талалаенко<sup>1</sup>

#### НЕЙРОФИЗИОЛОГІЧНІ ТА НЕЙРОХІМІЧНІ МЕХАНІЗМИ ПОРУШЕНЬ ПОВЕДІНКИ У ЩУРІВ ІЗ ХРОНІЧНИМ ЗАПАЛЕННЯМ ТКАНИН СПИНИ

<sup>1</sup>Донецький національний медичний університет МОЗ України (Україна).

#### Резюме

В умовах експериментального моделювання хронічного асептичного запалення тканин спини у щурів спостерігали зміни поведінки – істотно підвищення рівнів депресивності і тривожності. Такі зрушення проявлялись у збільшенні тривалості періоду іммобілізації в тесті форсованого плавання та зменшенні часу перебування тварин у відкритих рукавах піднятого хрестоподібного лабіринту. Відмічали також порушення вироблення та відтворення умовнорефлекторної реакції активного уникання, про що

свідчили збільшення латентного періоду такої реакції та кількості сполучень подразнень, необхідної для досягнення її стабільного рівня. Аналіз впливу продуктів запалення на нейрони V шару медіальної префронтальної кори показав, що хронічне периферичне запалення зумовлює пригнічення глутаматергічної синаптичної передачі при паралельному збільшенні амплітуди НМДА-компонентів популяційних ЗПСП і зниження їх чутливості до дії неселективних (кетамін) та селективних щодо субодиниць NR2A (цинку сульфат), але не NR2B (галоперидол) блокаторів НМДА-рецепторів. Експресія як тривалої потенціації, так і депресії синаптичної передачі пригнічувалася. У дослідженнях на зрізах гіпокампа відмічалось послаблення пригнічуючого впливу серотоніну (але не буспірону і норадреналіну) на амплітуду антидромних потенціалів дії пірамідних нейронів ділянки CA1. Ці факти свідчать про посилення процесу зворотного захвату серотоніну, але не норадреналіну, у варикозитети аксонів моноамінергічних нейронів. З урахуванням отриманих даних зроблено припущення, що зростання рівня депресивності в умовах хронічного запалення в значній мірі зумовлено підвищенням функціональної активності НМДА-рецепторів і послабленням серотонінергічних впливів на кортикальні нейрони. Зростання рівня тривожності тварин може бути пов'язано зі згаданим послабленням серотонінергічних впливів і/або посиленням функціональної активності високопорогових кальцієвих каналів L-типу. Порухення мнестичних процесів при запаленні може бути зумовлено метапластичним зміщенням порога індукції синаптичної пластичності у зв'язку з підвищенням функціональної активності НМДА-рецепторів та згаданих кальцієвих каналів.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. R. Dantzer, J. C. O'Connor, G. G. Freund, et al., "From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain," *Nat. Rev. Neurosci.*, **9**, No. 1, 45-46 (2008).
2. M. A. Bremner, A. T. Beekman, D. J. Deeg, et al., "Inflammatory markers in late-life depression: results from population-based study," *J. Affect. Disord.*, **106**, No. 2, 249-255 (2008).
3. C. L. Raison, L. Capuron, and A. H. Miller, "Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression," *Trends Immunol.*, **27**, No. 1, 24-31 (2006).
4. G. M. Asnis and R. De La Garza, "Interferon-induced depression in chronic hepatitis C: a review of its prevalence, risk factors, biology, and treatment approaches," *J. Clin. Gastroenterol.*, **40**, No. 3, 322-325 (2006).
5. A. F. Suffredini, H. D. Hochstein, and F. G. McMahon, "Dose-related inflammatory effects of intravenous endotoxin in humans: evaluation of a new clinical lot of *Escherichia coli* 0:113 endotoxin," *J. Infect. Dis.*, **179**, No. 10, 1278-1282 (1999).
6. A. Reichenberg, R. Yirmiya, A. Schuld, et al., "Cytokine-associated emotional and cognitive disturbances in humans," *Arch. Gen. Psychiat.*, **58**, No. 3, 445-452 (2001).
7. J. Hannestad, N. Della Gioia, and M. Bloch, "The effect of antidepressant medication on serum levels of inflammatory

- cytokines: a meta-analysis," *Neuropsychopharmacology*, **36**, No. 12, 2452-2459 (2011).
8. T. M. Reyes and C. L. Coe, "Interleukin-1 beta differentially affects interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor in the blood and central nervous system of the monkey," *J. Neuroimmunol.*, **66**, No. 1, 135-141 (1996).
  9. Y. Akaneya, "The remarkable mechanism of prostaglandin E2 on synaptic plasticity," *Gene Regulat. Syst. Bio.*, **1**, No. 1, 83-89 (2007).
  10. N. Muller, M. J. Schwarz, S. Dehning, et al., "The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib has therapeutic effects in major depression: results of a new a double-blind, randomized, placebo controlled, add-on pilot study to reboxetine," *Mol. Psychiat.*, **11**, No. 5, 680-684 (2006).
  11. N. Muller and M. J. Schwarz, "The immune-mediated alteration of serotonin and glutamate: towards an integrated view of depression," *Mol. Psychiat.*, **12**, No. 10, 988-1000 (2007).
  12. L. Capuron, G. Neurauder, D. L. Musselman, et al., "Interferon-alpha-induced changes in tryptophan metabolism. Relation to depression and paroxetine treatment," *Biol. Psychiat.*, **54**, No. 5, 906-914 (2003).
  13. J. Ishikawa, A. Ishikawa, and S. Nakamura, "Interferon-alpha reduces the density of monoaminergic axons in the rat brain," *NeuroReport*, **18**, No. 2, 137-140 (2007).
  14. A. M. Myint, Y. K. Kim, R. Verkerk, et al., "Kynurenine pathway in major depression: evidence of impaired neuroprotection," *J. Affect. Disord.*, **98**, No. 2, 143-151 (2007).
  15. E. Fedele and A. C. Foster, "An evaluation of the role of extracellular amino acids in the delayed neurodegeneration induced by quinolinic acid in the rat striatum," *Neuroscience*, **52**, No. 5, 911-917 (1993).
  16. Ф. П. Тринус, Н. А. Мохорт, *Нестероидные противовоспалительные средства*, Здоров'я, Киев (1975).
  17. R. D. Porsolt, A. Bertin, and M. Jalfre, "Behavioral despair" in rats and mice: strain differences and effects of imipramine," *Eur. J. Pharmacol.*, **51**, No. 2, 291-294 (1978).
  18. S. L. Handley and S. Mithani, "Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration of "fear"-motivated behavior," *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **327**, No. 1, 1-5 (1984).
  19. J. Knoll, K. Kolemen, and B. Knoll, "A method for the elaboration of a non-extinguishable conditioned reflex in the rat," *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, **6**, No. 2, 327-345 (1955).
  20. И. И. Абрамец, Д. В. Евдокимов, А. Н. Талалаенко, "Изменения пластических свойств и метапластичности глутаматергических синапсов в коре и гиппокампе крыс при резерпиновой поведенческой депрессии", *Нейрофизиология/Neurophysiology*, **39**, № 3, 214-221 (2007).
  21. F. Ross, S. Allan, N. Rothwell, and A. Verkhratsky, "Pro-inflammatory cytokine interleukin-1 $\beta$  affects synaptic plasticity in mouse hippocampal slices," *J. Physiol.*, **539**, S042 (2002).
  22. S. Hestrin, R. A. Nicoll, D. J. Perkel, and P. Sah, "Analysis of excitatory synaptic action in pyramidal cells using whole-cell recording from rat hippocampal slices," *J. Physiol.*, **422**, No. 2, 203-225 (1990).
  23. А. В. Баженов, А. М. Клещевников, "Реципрокное подавление АМРА- и НМДА-компонентов возбуждающих постсинаптических потенциалов в области CA1 гиппокампа крыс *in vitro*", *Журн. высш. нерв. деятельности*, **48**, № 5, 885-893 (1998).
  24. R. C. Carroll, D. V. Lissin, M. von Zastrow, et al., "Rapid redistribution of glutamate receptors contributes to long-term depression in hippocampal cultures," *Nat. Neurosci.*, **2**, No. 4, 454-460 (1999).
  25. W. Liu, E. Y. Yuen, P. B. Allen, et al., "Adrenergic modulation of NMDA receptors in prefrontal cortex is differentially regulated by RGS proteins and spinophilin," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, No. 48, 18338-18343 (2006).
  26. E. T. Yuen, Q. Jiang, P. Chen, et al., "Serotonin 5-HT1A receptors regulate NMDA receptor channels through a microtubule-dependent mechanism," *J. Neurosci.*, **25**, No. 23, 5488-5501 (2005).
  27. K. Morita and R. A. North, "Clonidine activates membrane potassium conductance in myenteric neurons," *Br. J. Pharmacol.*, **74**, No. 2, 419-420 (1981).
  28. R. Andrade, R. C. Malenka, and R. A. Nicoll, "A G-protein couples serotonin and GABA<sub>B</sub> receptors to the same channels in hippocampus," *Science*, **234**, No. 4781, 1261-1265 (1986).
  29. A. H. Miller and C. L. Raison, "Cytocines, p38 MAPK kinase and pathophysiology of depression," *Neuropsychopharmacology*, **31**, No. 12, 2089-2090 (2006).
  30. B. Viviani, S. Bartsaghi, F. Gardoni, et al., "Interleukin-1 beta enhances NMDA receptor-mediated [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> increase and neurotoxicity," *J. Neurosci.*, **23**, No. 25, 8692-8700 (2003).
  31. Y. P. Tang, E. Shimizu, G. R. Dube, et al., "Genetic enhancement of learning and memory in mice," *Nature*, **401**, No. 6634, 63-69 (1999).
  32. K. Sakimura, T. Kutsuwada, I. Ito, et al., "Reduced hippocampal LTP and spatial learning in mice lacking NMDA receptor epsilon 1 subunit," *Nature*, **373**, No. 6471, 151-155 (1995).
  33. F. Longordo, C. Kopp, M. Mishina, et al., "NR2A at CA1 synapses is obligatory for the susceptibility of hippocampal plasticity to sleep loss," *J. Neurosci.*, **29**, No. 28, 9026-9041 (2009).
  34. Y. Ikegaya, I. Delcroix, Y. Iwakura, et al., "Interleukin-1 abrogates long-term depression of hippocampal CA1 synaptic transmission," *Synapse*, **47**, No. 1, 54-57 (2003).
  35. S. Yang, Z.-W. Liu, L. Wen, et al., "Interleukin-1 $\beta$  enhances NMDA receptor-mediated current but inhibits excitatory synaptic transmission," *Brain Res.*, **1034**, Nos. 1/2, 172-179 (2005).
  36. C. C. Huang, C. C. Lee, and K. S. Hsu, "An investigation into signal transduction mechanisms involved in insulin-induced long-term depression in the CA1 region of the hippocampus," *J. Neurochem.*, **89**, No. 1, 217-231 (2004).
  37. V. A. Caraiscos, R. P. Bonin, J. G. Newell, et al., "Insulin increases the potency of glycine at ionotropic glycine receptors," *Mol. Pharmacol.*, **71**, No. 5, 1277-1286 (2008).
  38. R. X. Zhang, A. Li, B. Liu, et al., "IL-1 $\beta$  alleviates inflammatory hyperalgesia," *Pain*, **135**, No. 3, 232-239 (2007).
  39. F. Gardoni, M. Boraso, E. Zianni, et al., "Distribution of interleukin-1 receptor complex at the synaptic site," *J. Neuroinflammat.*, **8**, No. 1, 14 (2011).
  40. V. Tankredi, M. D'Antuono, C. Café, et al., "The inhibitory effects of interleukin-6 on synaptic plasticity in the rat hippocampus are associated with an inhibition of mitogen-activated protein kinase ERK," *J. Neurochem.*, **75**, No. 2, 634-643 (2000).
  41. S. Taniguchi, T. Nakazawa, A. Tanimura, et al., "Involvement of NMDAR2A tyrosine phosphorylation in depression-related behavior," *EMBO J.*, **28**, No. 23, 3717-3729 (2009).

42. K. D. Rainsford, C. Ying, and F. C. Smith, "Effect of meloxicam compared with other NSAIDs on cartilage," *J. Pharm. Pharmacol.*, **49**, No. 10, 991-998 (1997).
43. R. Andrade, "Regulation of membrane excitability in the central nervous system by serotonin receptor subtypes," *Ann. New York Acad. Sci.*, **861**, No. 1, 190-203 (1998).
44. J. W. Richardson-Jones, C. P. Craig, T. H. Nguyen, et al., "Serotonin-1A autoreceptors are necessary and sufficient for the normal formation of circuits underlying innate anxiety," *J. Neurosci.*, **31**, No. 16, 6008-6018 (2011).
45. В. Л. Козловский, И. В. Прахье, "Влияние блокаторов кальциевых каналов на поведение животных в тестах, определяющих анксиолитическую активность", *Эксперим. клин. фармакология*, **58**, № 1, 18-20 (1995).
46. C. A. Hartley and E. A. Phelps, "Changing fear: the neurocircuitry of emotion regulation," *Neuropsychopharmacology*, **35**, No. 1, 136-146 (2010).
47. M. Jiang, E. R. Griff, M. Ennis, et al., "Activation of *locus coeruleus* enhances the responses of olfactory bulb mitral cells to weak olfactory nerve input," *J. Neurosci.*, **16**, No. 22, 6319-6329 (1999).
48. E. A. Stone, Y. Zhang, H. Rosengarten, et al., "Brain alpha1-adrenergic neurotransmission is necessary for behavioral activation to environmental change in mice," *Neuroscience*, **94**, No. 4, 1245-1252 (1999).
49. D. S. Kerr, L. W. Campbell, O. Tibault, and P. W. Landfield, "Hippocampal glucocorticoid receptor activation enhances voltage-dependent Ca<sup>2+</sup> conductances: relevance to brain aging," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, No. 10, 8527-8531 (1992).
50. P. Chameau, Y. Qin, S. Spijker, et al., "Glucocorticoids specifically enhance L-type calcium current amplitude and affect calcium channel subunit expression in the mouse hippocampus," *J. Neurophysiol.*, **97**, No. 1, 5-14 (2007).
51. P. Sah and J. M. Bekkers, "Apical dendritic location of slow afterhyperpolarization current in hippocampal pyramidal neurons: implication for the integration of long-term potentiation," *J. Neurosci.*, **16**, No. 15, 4537-4542 (1996).