

На правах рукописи

МЕЖЛУМЯН

Армен Гарикович

**ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИДЕПРЕССИВНЫХ СВОЙСТВ ДИПЕПТИДНЫХ
МИМЕТИКОВ НЕЙРОТРОФИНОВ NGF И BDNF**

3.3.6 – Фармакология, клиническая фармакология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор, член-корр. РАН
Гудашева Татьяна Александровна

Москва - 2021

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Понятие о депрессивных расстройствах	13
1.2. Гипотезы депрессии.....	15
1.2.1. Моноаминовая гипотеза	15
Основные положения	15
Роль серотонина	17
Роль норадреналина.....	17
Роль дофамина	18
1.2.2. Нейротрофиновая гипотеза.....	19
Основные положения	19
Строение и молекулярные основы сигналинга мозгового нейротрофического фактора и фактора роста нервов.....	21
Вовлеченность мозгового нейротрофического фактора в патофизиологию депрессии.....	26
Вовлеченность фактора роста нервов в патофизиологию депрессии.....	28
Вовлеченность пострецепторных сигнальных путей Trk в патофизиологию депрессии.....	30
Связь моноаминовой и нейротрофиновой гипотез	31
1.2.3. Роль процессов воспаления в патофизиологии депрессии	34
1.3. Лекарственные средства, применяемые в терапии депрессивных расстройств, и перспективные фармакологически активные вещества, обладающие антидепрессивными свойствами	37
1.3.1. Классические антидепрессанты	37
1.3.2. Перспективные фармакологически активные вещества с антидепрессивным эффектом.....	39

Кетамин.....	39
Рапастинел (<i>Rapastinel</i>)	41
7,8-дигидроксифлавоны (<i>7,8-dihydroxyflavone</i>)	42
Дипептидные миметики нейротрофинов	44
1.4. Заключение	48
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	49
2.1. Экспериментальные животные	49
2.2. Материалы и реактивы	49
2.3. Статистическая обработка	52
2.4. Поведенческие тесты	53
2.4.1. Тест вынужденного плавания.....	53
2.4.2. Тест предпочтения сахарозы	55
2.4.3. Тест двигательной активности	56
2.5. Экспериментальные модели депрессивноподобного состояния	57
2.5.1. Модель депрессивноподобного состояния, вызванного социальным стрессом	57
2.5.2. Модель депрессивноподобного состояния, вызванного введением индуктора воспаления – липополисахарида	59
2.6. Описание иммунобиологических методов.....	60
2.6.1. Вестерн-блот анализ	60
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.....	62
3.1. Сравнительное изучение миметиков BDNF и NGF на антидепрессантоподобную активность	62
3.1.1. Исследование при однократном внутрибрюшинном введении	62

Дизайн эксперимента	62
Результаты	63
3.1.2. Исследование при субхроническом внутрибрюшинном введении	66
Дизайн эксперимента	67
Результаты	68
3.1.3. Обсуждение	70
3.2. Изучение антидепрессантоподобного действия ГСБ-106 на модели депрессивноподобного состояния, вызванного социальным стрессом.....	73
3.2.1. Исследование антидепрессантоподобного действия ГСБ-106 и его влияния на синаптогенез в гиппокампе на модели 10-дневного социального стресса при однократном пероральном введении	73
Дизайн эксперимента	73
Результаты	74
3.2.2. Исследование антидепрессантоподобного действия ГСБ-106 на модели 28-дневного социального стресса при однократном пероральном введении.....	77
Дизайн эксперимента	77
Результаты	78
3.2.3. Исследование антидепрессантоподобного действия ГСБ-106 и его влияния на синаптогенез и нейрогенез в гиппокампе на модели 28-дневного социального стресса при хроническом пероральном введении.....	80
Дизайн эксперимента	80
Результаты	81
3.2.4. Обсуждение	84
3.3. Изучение антидепрессантоподобного эффекта ГСБ-106 при однократном пероральном введении на модели депрессивноподобного состояния, вызванного индуктором воспаления – липополисахаридом	87
Дизайн эксперимента	87
Результаты	88
Обсуждение	89

3.4. Изучение возможных механизмов антидепрессантоподобного действия ГСБ-106 с использованием метода фармакологического ингибиторного анализа	90
3.4.1. Роль активации TrkB в антидепрессантоподобном действии ГСБ-106	90
Дизайн эксперимента	90
Результаты	91
3.4.2. Роль активации PI3K/AKT сигнального пути в антидепрессантоподобном действии ГСБ-106	94
Дизайн эксперимента	94
Результаты	94
3.4.3. Роль активации MAPK/ERK сигнального пути в антидепрессантоподобном действии ГСБ-106.....	97
Дизайн эксперимента	97
Результаты	97
3.4.4 Роль активации PLC γ сигнального пути в антидепрессантоподобном действии ГСБ-106.....	100
Дизайн эксперимента	100
Результаты	100
3.4.5. Обсуждение	103
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	105
ВЫВОДЫ	109
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	109
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	111
БЛАГОДАРНОСТИ	112
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	113

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Депрессия является одним из распространенных психических расстройств. По оценкам ВОЗ на 2021 год, от нее страдает порядка 280 млн человек в мире. Депрессия вносит значительный вклад в глобальное бремя болезней, а ее тяжелые формы могут приводить к самоубийству [2]. Современные моноаминергические антидепрессанты (ингибиторы моноаминоксидазы, трициклические антидепрессанты, селективные ингибиторы обратного захвата моноаминов) эффективны не более чем в 60% случаев и требуют длительного (не менее 2 недель) применения для достижения терапевтического эффекта [87, 176].

Экспериментальные и клинические данные последних 10 лет связывают развитие депрессивных расстройств с нарушениями процессов нейрональной и синаптической пластичности мозга, вызванными дефицитом нейротрофинов, таких как мозговой нейротрофический фактор (brain-derived neurotrophic factor) и фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF) [67, 156]. Снижение уровней BDNF и NGF в гиппокампе отмечено у жертв суицида, страдавших депрессией [48].

Кроме того, описано влияние антидепрессантов на экспрессию и уровень нейротрофинов в гиппокампе, коре мозга и в сыворотке крови. Различные по механизму действия антидепрессанты, такие как ингибиторы обратного захвата серотонина флуоксетин, пароксетин и сертралин [69], ингибитор моноаминоксидазы транилципромин [39] и трициклический антидепрессант имипрамин [108] вызывают увеличение экспрессии BDNF в гиппокампе. Трехнедельное пероральное введение атипичного антидепрессанта тианептина мышам линии BALB/c предотвращает снижение экспрессии NGF на фоне хронического стресса [37].

Показано, что сами нейротрофины при внутримозговом введении обладают антидепрессивным эффектом [171, 203]. Однако терапевтическое применение полноразмерных BDNF и NGF ограничивается их нестабильностью в

биологических жидкостях и низкой способностью проникать через гематоэнцефалический барьер в связи с их белковой природой. Создание и изучение низкомолекулярных миметиков нейротрофинов является перспективным направлением в решении проблемы фармакокинетических ограничений нативных нейротрофинов.

Степень разработанности проблемы

На основании оригинальной гипотезы о том, что нейротрофины взаимодействуют со своими высокоаффинными Trk рецепторами наиболее экспонированными участками их петлеобразных структур, в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова были сконструированы и синтезированы димерные дипептидные миметики β -изгибов отдельных петель NGF и BDNF [3, 10] [Патент РФ №2410392, 2011; Патент США № 9683014 В2, 2017; Патент КНР №102365294 В, 2016; Патент ЕПВ EP 2397488, 2019; Патент Индии 296506, 2018].

Было показано, что дипептидные миметики NGF активируют TrkA, а миметики BDNF – TrkB, а также проявляют нейропротекторную активность *in vitro* в концентрациях 10^{-5} – 10^{-9} М [98, 5, 6, 10, 29]. При этом *in vitro* исследования на культуре иммортализованных клеток гиппокампа мыши линии НТ-22 показали, что миметики разных петель имеют разные паттерны активации пострецепторных сигнальных путей. Миметик 4-й петли NGF ГК-2 активировал PI3/АКТ [29], а миметик 1-й петли ГК-6 – MAPK/ERK и PI3/АКТ сигнальные пути [98]. Миметик 4-й петли BDNF ГСБ-106 активировал оба пути MAPK/ERK и PI3/АКТ, а миметики 1-й и 2-й петель, ГСБ-214 и ГТС-201 активировали PI3/АКТ и MAPK/ERK, соответственно [5, 6]. Для всех миметиков нейротрофинов показана активация PLC γ [9].

Дипептидный миметик BDNF ГСБ-106 влиял на пластичность мозга, активируя нейрогенез и синаптогенез [8, 11].

Исследования антидепрессантоподобных свойств миметиков нейротрофинов ранее не проводились, за исключением предварительного эксперимента с ГСБ-106 [28].

Наличие нейропротекторной активности, способность действовать на нейротрофиновые Trk рецепторы и улучшать пластичность мозга определили перспективу выявления и исследования антидепрессантоподобных свойств дипептидных миметиков нейротрофинов при системном введении, включая пероральное.

Цель исследования

Сравнительное изучение антидепрессантоподобных свойств дипептидных миметиков нейротрофинов NGF и BDNF и доказательство участия TrkB-зависимых сигнальных путей в механизме действия наиболее активного соединения.

Задачи исследования

1. Изучение антидепрессантоподобной активности дипептидных миметиков отдельных петель NGF и BDNF в тесте вынужденного плавания на мышах и выбор наиболее активного соединения.
2. Изучение антидепрессантоподобного действия отобранного соединения на модели 10-дневного социального стресса на мышах при однократном пероральном введении с оценкой влияния на синаптогенез в гиппокампе.
3. Изучение антидепрессантоподобного действия отобранного соединения на модели 28-дневного социального стресса на мышах при однократном пероральном введении.
4. Изучение антидепрессантоподобного действия отобранного соединения на модели 28-дневного социального стресса на мышах при хроническом пероральном введении с оценкой влияния на синаптогенез и нейрогенез в гиппокампе.
5. Изучение антидепрессантоподобного действия отобранного соединения на модели депрессивноподобного состояния, вызванного введением липополисахарида.

6. Изучение роли активации TrkB и пострецепторных каскадов PI3K/AKT, MAPK/ERK и PLC γ в механизме антидепрессантоподобной активности отобранного соединения с помощью фармакологического ингибиторного анализа.

Научная новизна

Впервые установлено, что при остром внутрибрюшинном введении антидепрессантоподобной активностью обладает только миметик BDNF ГСБ-106, активирующий *in vitro* основные Trk-ассоциированных пострецепторные сигнальные каскады. Антидепрессантоподобные свойства миметиков NGF были выявлены только при субхроническом введении. Показано, что при субхроническом внутрибрюшинном введении активность проявляют все миметики NGF и BDNF, в картине пострецепторного сигналинга *in vitro* которых наблюдали активацию PI3K/AKT.

Впервые установлено, что при однократном введении ГСБ-106 оказывает антидепрессантоподобный эффект на модели 10-дневного социального стресса, а в условиях 28-дневного социального стресса активность ГСБ-106 проявляется только при его хроническом введении и сопровождается увеличением уровней маркеров синапто- и нейрогенеза.

Впервые антидепрессантоподобные свойства ГСБ-106 были подтверждены на модели депрессивноподобного состояния, вызванного индуктором воспаления – липополисахаридом (ЛПС).

Впервые показано, что антидепрессантоподобные эффекты ГСБ-106 зависят от активации TrkB и пострецепторных каскадов PI3K/AKT, MAPK/ERK и PLC γ .

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическое и практическое значение имеют установленные антидепрессантоподобные свойства дипептидных миметиков отдельных петель нейротрофинов и их связь с активацией пострецепторных сигнальных путей. Эти данные в свете нейротрофиновой гипотезы позволят расширить имеющиеся сведения о патогенезе заболевания. Полученные в результате работы данные о

механизме антидепрессивного действия миметиков нейротрофинов позволяют разработать принципиально новую стратегию фармакологической коррекции нарушений пластичности мозга, сопутствующих депрессивным расстройствам. Изучение активности миметиков на разных моделях депрессии на животных позволяет определять эффективность их воздействия на определенные звенья патогенеза заболевания, коррелирующие с таковыми у людей. Активные дипептидные миметики нейротрофинов могут послужить основой для разработки нового класса антидепрессантов с нейротрофинергическим механизмом действия.

Методология и методы исследования

Методологический подход включал изучение дипептидных миметиков нейротрофинов в тесте вынужденного плавания по Порсолту с отбором наиболее активного соединения для последующего детального изучения его антидепрессантоподобных свойств на двух принципиально различающихся моделях депрессивноподобного состояния – вызванного социальным стрессом разной продолжительности и индуцированного воспалением с помощью липополисахарида. Изучение механизма антидепрессантоподобного действия соединения-лидера проводилось с применением фармакологического ингибиторного анализа. Полученные в поведенческих тестах результаты подтверждались с использованием иммунобиологических методов определения уровней белковых маркеров пластичности мозга.

Связь темы диссертации с научными планами института

Диссертация выполнена в рамках научно-исследовательской работы ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Тема 0521-2019-0002: «Разработка новых средств и методов фармакотерапии тревожных расстройств и депрессивных состояний» и тема 0521-2019-0003: «Изыскание фармакологических способов избирательной активации путей трансдукции сигнала тирозинкиназных нейротрофиновых рецепторов как основы для создания лекарственных средств, свободных от побочных эффектов нативных нейротрофинов».

Основные положения, выносимые на защиту

1. В тесте вынужденного плавания по Порсолту активностью при однократном внутрибрюшинном введении обладает миметик 4-й петли BDNF ГСБ-106, для которого *in vitro* показана активация всех трех основных TrkB-ассоциированных пострецепторных сигнальных путей, а при субхроническом введении активностью обладают миметики как BDNF, так и NGF, в картине активации сигналинга которых имеется PI3K/АКТ путь.
2. ГСБ-106 при однократном пероральном введении оказывает антидепрессантоподобное действие на модели 10-дневного социального стресса и не проявляет активность на модели 28-дневного стресса.
3. ГСБ-106 оказывает выраженное антидепрессантоподобное действие на модели 28-дневного социального стресса при хроническом пероральном введении, сопровождающееся восстановлением уровней маркеров синаптогенеза (синаптофизин) и нейрогенеза (BDNF, CREB и pCREB), сниженных в условиях стресса.
4. ГСБ-106 проявляет антидепрессантоподобные свойства на модели депрессивноподобного состояния, вызванного введением индуктора воспаления – липополисахарида.
5. В антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 вносят вклад основные TrkB-ассоциированные пострецепторные каскады. Эффект ГСБ-106 не реализуется при блокаде как самого TrkB рецептора, так и связанных с ним сигнальных путей: PI3K/АКТ, MAPK/ERK или PLC γ .

Степень достоверности

Исследование выполнено на большом экспериментальном материале с использованием адекватных методов исследования. Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием современных методов математической статистики.

Апробация работы

Основные результаты диссертационной работы были представлены на X Российском симпозиуме «Белки и пептиды» (Дагомыс, 2021) и II научной конференции молодых ученых «Актуальные исследования в фармакологии» (Москва, 2021).

Личный вклад автора

Автором лично проведен обзор и анализ литературы по теме диссертации, выполнены фармакологические эксперименты по выявлению антидепрессантоподобного эффекта как в поведенческих тестах, так и на моделях депрессивноподобного состояния. При участии автора выполнены иммунобиологические исследования. Автором лично проведена обработка полученных результатов, сформулированы выводы. При активном и непосредственном участии автора подготовлены публикации по результатам работы.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 11 работ, из них 5 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 1 статья в журнале, индексируемом в РИНЦ, 1 глава в коллективной монографии и 4 тезиса.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

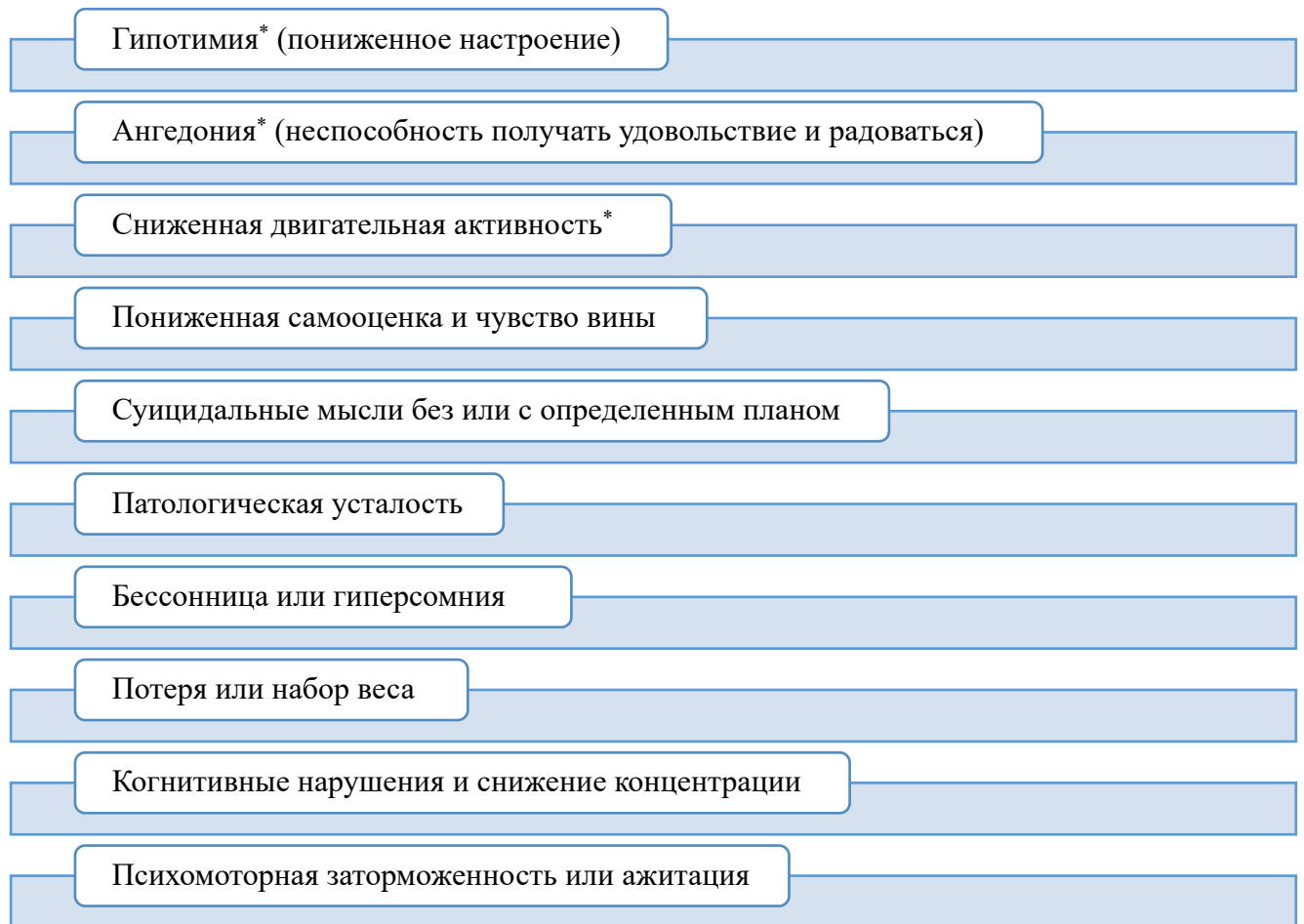
1.1. Понятие о депрессивных расстройствах

Депрессия – это психическое нарушение, которое характеризуется унынием, потерей интереса, неспособностью радоваться и получать удовольствие, чувством вины или низкой самооценкой, нарушениями сна, аппетита и чувством усталости [2].

По данным ВОЗ, депрессия – распространенное во всем мире психическое заболевание, от которого страдает порядка 280 млн. человек. Основные диагностические критерии депрессии, описанные в диагностическом и статистическом руководстве по психическим расстройствам 5-го издания (Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders, fifth edition, *DSM-5*), представлены на рис. 1 [151].

В случае, если 5 (или более) указанных симптомов наблюдаются на протяжении двухнедельного периода и не связаны с каким-либо сопутствующим заболеванием или принимаемыми лекарственными препаратами, принято диагностировать большое депрессивное расстройство (БДР).

БДР является ведущей формой депрессии и характеризуется повторяющимися депрессивными эпизодами. В случаях, если симптомы депрессии проявляются в течение по крайней мере двух лет без периодов ремиссии, превышающих два месяца, такое состояние определяют как персистирующее депрессивное расстройство, или дистимию [151].



* - ключевые симптомы депрессии

Рис. 1 Критерии депрессивных расстройств [151]

Депрессия может проявляться в различных формах и с разной клинической картиной, что значительно усложняет ее выявление, особенно на фоне других заболеваний. В связи с этим, в клинической практике депрессивные расстройства часто упускаются или диагностируются некорректно, особенно при оказании первичной врачебной и первичной специализированной помощи.

1.2. Гипотезы депрессии

В настоящее время не существует ясного понимания нейробиологических причин депрессивных расстройств. Накопленные экспериментальные и клинические данные позволили сформировать ряд гипотез, в той или иной мере описывающих патогенез заболевания. Однако депрессия является этиологически и клинически гетерогенным заболеванием, в связи с чем отдельно взятые гипотезы не могут в полной мере описать все ее патофизиологические процессы. Были сформированы следующие гипотезы депрессивных расстройств:

- моноаминовая гипотеза: связывает развитие депрессии с дефицитом нейромедиаторов-моноаминов (норадреналина, дофамина и серотонина);
- нейротрофиновая гипотеза: связывает развитие депрессии с дефицитом нейротрофинов, таких как мозговой нейротрофический фактор (*brain-derived neurotrophic factor*, BDNF) и фактор роста нервов (*nerve growth factor*, NGF);
- воспалительная гипотеза: связывает развитие депрессии с нарушениями работы нейронов под действием воспалительного ответа.

1.2.1. Моноаминовая гипотеза

Основные положения

Большая часть серотонинергических, норадренергических и дофаминергических нейронов расположена в ядрах среднего мозга и ствола мозга и имеет проекции на обширные области головного мозга, что свидетельствует об участии моноаминергических систем в регуляции широкого спектра функций

мозга, включая настроение, внимание, систему вознаграждения, аппетит и когнитивные функции.

Основным тезисом моноаминергической теории является утверждение о том, что истощение моноаминовых нейротрансмиттеров является основой патофизиологии депрессивных расстройств. Предположение о том, что моноамины, а именно серотонин, норадреналин и дофамин, могут играть роль в формировании и развитии аффективных расстройств, стало следствием клинического наблюдения конца 1950-х годов того, что препараты из двух фармакологически не связанных классов были эффективны при лечении БДР. Первый класс соединений включал ингибиторы моноаминоксидазы (иМАО), а именно препарат ипрониазид, который в то время использовался для лечения туберкулеза и проявлял ярко выраженные психотропные эффекты. Вторым классом включал трициклические антидепрессанты (ТЦА), представленными на тот момент препаратом имипрамином [184].

Исследования, проводимые в период с 1950-х по 1980-е годы, свидетельствовали в пользу вовлеченности катехоламинов как в патогенез депрессии, так и в механизм антидепрессивного действия применяемых в то время антидепрессантов. К 1980 году научное сообщество склонялось к ведущей роли серотонинергических структур в патогенезе депрессии [184], что способствовало появлению нового класса антидепрессантов – селективных ингибиторов обратного захвата серотонина.

Моноаминовая теория депрессивных расстройств объясняет лишь некоторые биохимические и патофизиологические механизмы развития заболевания, оставляя открытым вопрос об истинных причинах их возникновения и механизмах фармакологической коррекции. Известно, что все клинически эффективные антидепрессанты изменяют уровни моноаминов уже после первого приема, однако их терапевтический эффект в большинстве случаев развивается не ранее, чем через две недели непрерывной терапии. Причинами запоздалого проявления терапевтического действия антидепрессантов, по разным данным, считают

длительно развивающиеся процессы нейрогенеза и ремоделирования нейрональных связей [150, 154].

Роль серотонина

Серотонин (5-гидрокситриптамин, 5-НТ) является наиболее изученным нейромедиатором с точки зрения его роли в депрессивных расстройствах.

Исследования с использованием метода истощения триптофана (прекурсора серотонина) показали, что сниженный уровень серотонина в ЦНС приводит к развитию симптомов депрессии у людей, находящихся в группе риска: пациентов с БДР в полной ремиссии и здоровых людей с депрессией в семейном анамнезе [164]. Снижение уровня прекурсора серотонина – триптофана – наблюдается в плазме крови больных, страдающих тяжелыми формами депрессивных расстройств [42].

Посмертные исследования показали, что у людей с депрессией в анамнезе наблюдается снижение уровня серотонинового транспортера в префронтальной коре, что свидетельствует о нарушении серотонинергической нейротрансмиссии [44]. Кроме того, у больных депрессией установлено снижение лиганд-рецепторного взаимодействия серотонина и 5-НТ_{1A} рецепторов, являющихся ключевыми в серотонинергической передаче [77]. Полиморфизм генов, кодирующих 5-НТ_{1A}, также связывают с увеличением риска развития депрессии [92].

Роль норадреналина

В пользу роли норадренергической системы в патофизиологии депрессивных расстройств свидетельствуют данные клинических исследований. У пациентов с депрессией наблюдается как снижение [128], так и увеличение [64] метаболизма

норадреналина. Посмертные исследования биоматериала больных БДР позволили выявить повышенную плотность α_2 -адренорецепторов в голубом пятне [170]. Кроме того, у больных БДР в голубом пятне наблюдается повышенная активность тирозингидроксилазы (фермента биосинтеза катехоламинов) [238] и пониженная плотность белка-переносчика норадреналина [116]. Важно отметить, что подобные явления наблюдаются и у крыс на модели депрессивноподобного состояния, вызванного введением симпатолитика резерпина [72], и устраняются при хроническом введении антидепрессантов [124, 163].

Подтип α_2 -адренорецепторов представляет особый интерес в отношении реакции на стресс и склонности к депрессии. Ряд исследований с использованием нокаутных по генам α_{2a} - и α_{2c} -адренорецепторов мышей показывает, что α_{2a} -адренорецепторы реализуют механизмы защиты от стресса, в то время как α_{2c} -адренорецепторы опосредуют подверженность к стрессу [193, 197].

Роль дофамина

Дофамин – важнейший нейромедиатор ЦНС, участвующий в регуляции чувств удовлетворения, любви и привязанности, реализации когнитивных функций, координации движения. Дофамин составляет более половины всех катехоламинов в ЦНС.

Несмотря на то, что классическое понимание нейробиологии депрессии в основном сфокусировано на серотонине и норадреналине, высокий интерес представляет роль дофамина. В плацебо-контролируемых клинических исследованиях для ингибиторов обратного нейронального захвата дофамина (антидепрессант номифензин) и агонистов дофаминовых рецепторов (противопаркинсоническое средство прамипексол) было показано антидепрессивное действие у больных с депрессией [95].

У больных, страдающих депрессией, уровни метаболитов дофамина в спинномозговой жидкости и плазме крови устойчиво низкие, что свидетельствует о нарушениях обмена дофамина [128]. По меньшей мере в половине случаев гибели дофаминергических нейронов и разрушения их проекций в стриатум при болезни Паркинсона развиваются симптомы БДР, которые зачастую предшествуют первым моторным проявлениям паркинсонизма [194].

Имеются данные исследований, в которых экспериментальным путем снижали дофаминергическую нейротрансмиссию в прилежащем ядре, при этом у людей с повышенным риском развития депрессивных расстройств (пациенты с БДР в стадии полной ремиссии) наблюдались проявления ангедонии и нарушения в системе вознаграждения мозга [102, 103]. Эти данные согласуются с наблюдаемыми в клинической практике нарушениями у пациентов с депрессией, а именно притупленной реакцией на положительное подкрепление и обостренной реакцией на отрицательные стимулы [160].

1.2.2. Нейротрофиновая гипотеза

Основные положения

Первый нейротрофин – фактор роста нервов – был открыт в 1950-х годах Ритой Леви-Монтальчини и Стэнли Коэном, за что им была присуждена Нобелевская премия [134]. В своих работах Леви-Монтальчини охарактеризовала NGF как молекулу, способствующую росту сенсорных и симпатических нейронов. В 1982 году из мозга свиньи был выделен мозговой нейротрофический фактор, а также была доказана его роль в обеспечении выживаемости нейронов ганглиев задних корешков спинного мозга [49].

Нейротрофиновая гипотеза депрессии связывает развитие расстройства с нарушением следующих ключевых процессов в мозге [80]:

- нейропластичности – способности мозга непрерывно изменяться в течение всей жизни под воздействием факторов внешней среды, а также восстанавливать утраченные в результате повреждения (травмы головного мозга или патологических процессов) нейронные связи;
- синаптической пластичности – способности изменять активность синаптической передачи в ответ на внешние раздражители;
- нейрогенеза – комплексного процесса, в результате которого клетки-предшественники нейронов пролиферируют, мигрируют в определенные участки мозга, дифференцируются и интегрируются в нейрональную сеть;
- синаптогенеза – процесса формирования новых синаптических контактов между нейронами.

Исследования последних 20 лет, посвященные аффективным расстройствам и, в частности, депрессии, показывают, что одним из важнейших этиологических факторов развития расстройств настроения является атрофия и гибель нервных клеток лимбической системы мозга. Исследования по визуализации мозга свидетельствуют о выраженном уменьшении объема лимбических структур (в особенности гиппокампа) и префронтальной коры (ПФК) у больных с депрессией [78, 146]. Кроме того, при депрессии нарушаются дендритное ветвление и нейротрансмиттерная передача.

Значимую роль в нарушениях лимбической системы играет хронический стресс. Показано, что при длительном стрессе нарушается дендритное ветвление и количество синаптических контактов в гиппокампе и ПФК [153, 199]. Хронический непредсказуемый стресс приводит к развитию проявлений депрессивных расстройств у крыс: ангедонии и повышенной тревожности [136].

Таким образом, нейротрофины могут играть ключевую роль в патогенезе депрессивных расстройств. Широко изучена вовлеченность BDNF в патофизиологию депрессии.

Строение и молекулярные основы сигналинга мозгового нейротрофического фактора и фактора роста нервов

Фактор роста нервов (NGF) – белок семейства нейротрофинов, стимулирующий рост и развитие нейронов, обеспечивающий поддержание их жизнеспособности и активности. NGF образуется из белка-предшественника pro-NGF, который либо секретируется во внеклеточное пространство, либо преобразуется внутри клетки до зрелого NGF [76].

Зрелый NGF – это димерная полипептидная молекула массой 26кДа. Установлено, что каждый мономер NGF состоит из 7 β -тяжей, которые, в свою очередь, формируют 3 антипараллельные пары, две из которых определяют удлиненную форму всей молекулы [109]. Структура NGF мыши представлена на рис. 2.



Рис. 2 Структура NGF мыши (PDB ID: 1bet)

Мозговой нейротрофический фактор (BDNF) также является белком из семейства нейротрофинов и выполняет целый ряд функций в развитии и нормальном функционировании ЦНС, в частности, стимулирует и поддерживает развитие нейронов [156].

Молекула BDNF примерно на 50% идентична NGF по аминокислотному составу и так же синтезируется сначала в виде белка-предшественника – pro-BDNF, а затем преобразуется в зрелый BDNF [62].

Строение молекулы BDNF схоже с NGF и другими нейротрофинами. BDNF представляет собой гомодимер нековалентно связанных мономеров. Каждый мономер содержит 7 бета-тяжей, которые входят в состав трех продольных закрученных бета-листов, заканчивающихся тремя шпилькообразными петлями 1, 2 и 4, а также удлинённой петлей 3. Структура BDNF человека представлена на рис. 3.



Рис. 3 Структура BDNF человека (PDB ID: 1b8m)

Нейротрофины взаимодействуют с трансмембранными рецепторами с последующим запуском внутриклеточных каскадов реакций. NGF и BDNF могут связываться с двумя типами рецепторов:

- нейротрофиновыми p75 (NTR) рецепторами (75kDa neurotrophin receptor) семейства рецепторов фактора некроза опухоли (ФНО);
- нейротрофиновыми тирозинкиназными рецепторами (Trk), при этом NGF связывается с TrkA рецепторами (*tropomyosin-related kinase A*), а BDNF – с TrkB рецепторами (*tropomyosin-related kinase B*).

Оба типа рецепторов связываются с нейротрофинами с одинаковой аффинностью (10^{-9} М), однако в присутствии p75 (NTR) рецепторов

тирозинкиназные Trk рецепторы увеличивают свою аффинность в 100 раз (10^{-11} M), в связи с чем их, в отличие от самих p75 (NTR) рецепторов, принято считать высокоаффинными [218].

p75 (NTR) рецепторы и их сигнальные пути

p75 (NTR) рецептор вступает во взаимодействие со всеми известными нейротрофинами в зрелой форме и с их белками-предшественниками [186].

Связывание нейротрофинов, в том числе NGF и BDNF, с p75 (NTR) приводит к изменению конформации рецептора с последующей активацией одного из трех основных внутриклеточных сигнальных путей:

- путь, ассоциированный с NF-κB (*Nuclear Factor kappa B*) и увеличивающий выживаемость нейронов, а также дендритный рост;
- путь, ассоциированный с JNK (*c-Jun-N-terminal kinase*) и приводящий к гибели клеток посредством апоптоза;
- путь, ассоциированный с церамидом, способствующий как выживаемости, так и апоптозу клеток.

Trk рецепторы и их сигнальные пути

Тирозинкиназные рецепторы семейства Trk представляют собой трансмембранные белки типа I (N-конец обращен наружу клетки). Внутриклеточные участки рецепторов образуют, собственно, тирозинкиназный домен [74].

Связывание лиганда с Trk приводит к димеризации рецептора и последующему фосфорилированию трех остатков тирозина в ауторегуляторной петле домена Trk, что дополнительно активирует киназу и тем самым инициирует каскад внутриклеточных сигнальных реакций [220]. Фосфорилированные остатки тирозина образуются во всех подтипах Trk рецепторов, однако их расположение отличается в каждом конкретном подтипе [74].

TrkA рецепторы и их внутриклеточные сигнальные каскады

Данный подтип тирозинкиназных рецепторов связывается преимущественно со зрелой формой NGF. Молекула TrkA содержит тирозиновые остатки Y490 и Y785. Фосфорилирование Y490 приводит к формированию сайтов связывания с сигнальными и адаптерными белками, в частности белками Shc (Src homology 2-containing protein) и FRS2 (fibroblast growth factor receptor substrate 2), являющимися первыми звеньями в MAP-киназном и PI3-киназном каскадах. Фосфорилирование Y785 напрямую связано с активацией PLC γ [204].

Описано три основных внутриклеточных сигнальных каскада, активируемых при взаимодействии NGF с TrkA:

1. **Каскад, ассоциированный с митоген-активируемой протеинкиназой (MAPK, *mitogen-activated protein kinase*).** Основная роль каскада MAPK – дифференцировка клеток [139]. Однако есть данные, что MAPK каскад способствует увеличению болевой чувствительности в ноцицептивных нейронах [169]. Эукариотические клетки обладают множеством MAPK путей, которые регулируют экспрессию генов, митоз, некоторые процессы метаболизма, выживаемость клеток и их гибель через апоптоз [61].
2. **Каскад, ассоциированный с фосфатидилинозитол-3-киназой (PI3K, *phosphatidylinositol-3-kinase*) и протеин-киназой В (также известной как АКТ – *serine/threonine-protein kinase*) – PI3/АКТ.** Данный пострецепторный каскад играет важную роль в росте, пролиферации клеток, предотвращении апоптоза, росте аксонов и выживаемости нервных клеток [231].
3. **Каскад, ассоциированный с фосфолипазой C- γ (PLC γ , *phospholipase C- γ*).** Конечным результатом активации PLC γ пути является регуляция экспрессии генов, ответственных за рост аксонов, рост и дифференцировку клеток, а также регуляция активности ряда белков, участвующих в синаптической пластичности [186].

Более подробно данные каскады представлены на рис. 4.

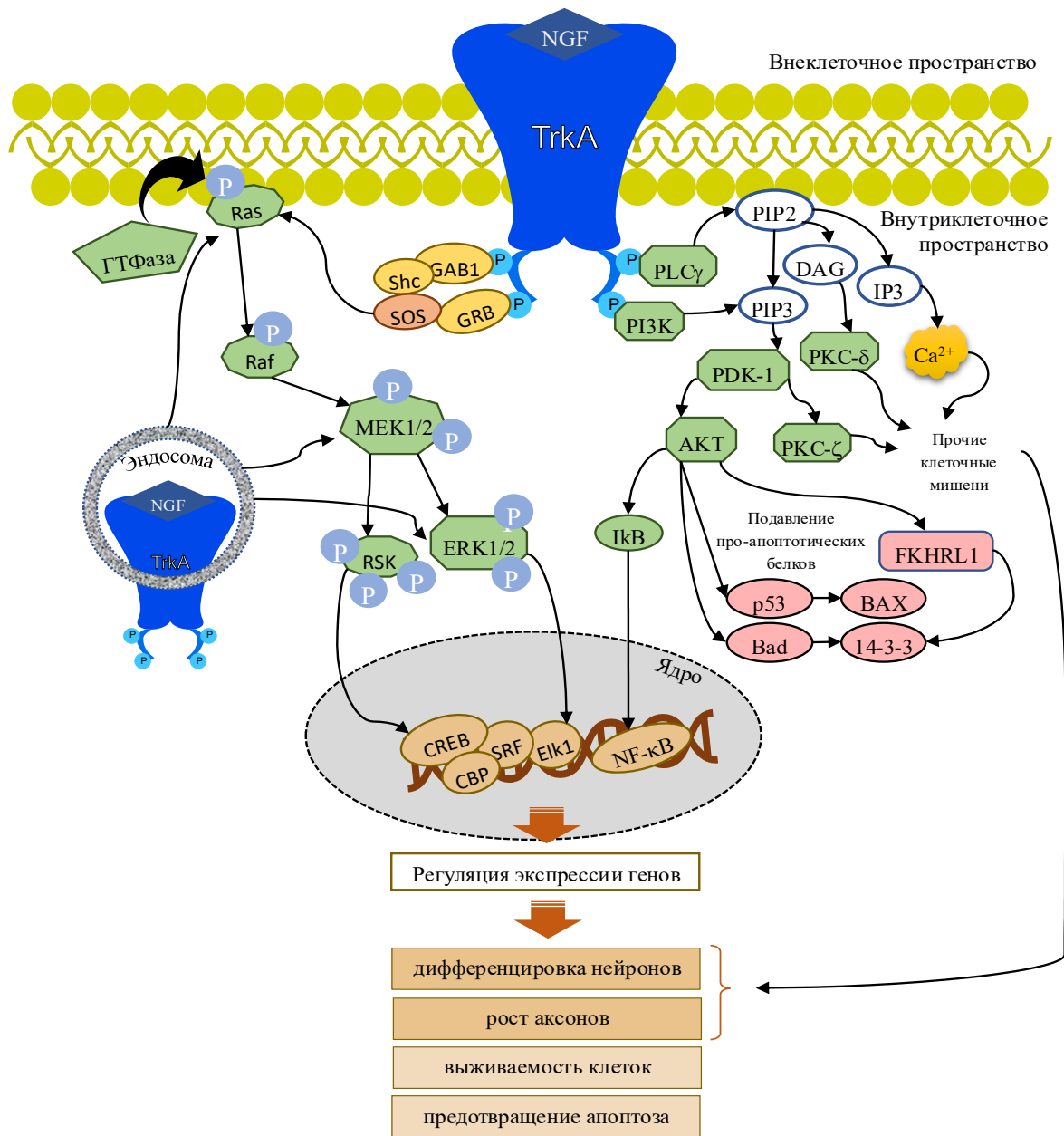


Рис. 4 Схема основных сигнальных путей, активируемых TrkA рецептором [165]

NGF – nerve growth factor, фактор роста нервов; TrkA – tropomyosin receptor kinase A, тропмиозин-рецепторная киназа A; PLC γ – phospholipase C-gamma, фосфолипаза С-гамма; PI3K – phosphoinositide 3-kinase, фосфоинозитид-3-киназа; PIP2 и PIP3 – phosphatidylinositol 4,5-bis- and 3,4,5-triphosphates; фосфатидилинозитол ди- и трифосфаты; DAG – diacylglycerol, диацилглицерол; IP3 – inositol trisphosphate, инозитолтрифосфат; Ca $^{2+}$ – ионы кальция; PKC- δ – protein kinase C-delta type, протеинкиназа С тип дельта; PDK-1 – phosphoinositide-dependent kinase-1, фосфоинозитид-зависимая киназа-1; PKC- ζ – protein kinase C-zeta type, протеинкиназа С тип дзета; AKT – RAC-alpha serine/threonine-protein kinase; RAC-альфа серин/треониновая протеинкиназа; p53 – белок p53, транскрипционный фактор; BAX – BCL2 associated X protein, BCL2 ассоциированный X протеин, проапоптотический белок; BAD – BCL2 associated agonist of cell death, BCL2 ассоциированный агонист клеточной смерти (проапоптотический белок); 14-3-3 – регуляторный белок; FKHL1 – транскрипционный фактор; I κ B – NF-kappa B inhibitor, ингибитор NF- κ B; GAB1 – GRB2-associated-binding protein 1, GRB2 ассоциированный связывающий белок 1; GRB – growth factor receptor bound protein, связанный с рецептором фактора роста белок; Shc – Src homology 2 domain containing transforming protein, трансформирующий белок, содержащий домен Src гомолога 2; SOS – son of sevenless, адаптерный белок; Ras – ГТФаза Ras; Raf – rapidly accelerated fibrosarcoma, прото-онкогенная протеинкиназа; MEK1/2 – mitogen-activated protein kinase kinases 1/2, киназы митоген-активируемой протеинкиназы 1/2; RSK – ribosomal s6 kinase, рибосомальная s6 киназа; ERK1/2 – extracellular signal-regulated kinases 1/2, регулируемые сигналом внеклеточные киназы 1/2; CREB – cAMP response element-binding protein, элемент-связывающий белок ответа цАМФ (транскрипционный фактор); CBP – CREB binding protein, CREB-связывающий белок; SRF – serum response factor, фактор ответа сыворотки, транскрипционный фактор; Elk1 – транскрипционный фактор; NF- κ B – nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, ядерный фактор «каппа-би».

TrkB-рецепторы и их внутриклеточные сигнальные пути

TrkB-рецептор имеет высокую аффинность к BDNF. Связывание BDNF и TrkB приводит к димеризации последнего и активации внутриклеточного тирозинкиназного участка. Активация TrkB-рецептора инициирует запуск тех же каскадов реакций, что и при активации TrkA-рецептора. В случае с TrkB-рецептором, в отличие от TrkA-рецептора, фосфорилируются остатки тирозина Y515, ассоциированного с MAP-киназным и PI3-киназным каскадом, а также Y816, ассоциированного с PLC γ каскадом, и ряд других тирозинов (Y670, Y674, Y675) [74, 211].

Вовлеченность мозгового нейротрофического фактора в патофизиологию депрессии

Исследования BDNF-зависимых процессов, в связи с центральной ролью нейротрофина в обеспечении нейронального роста, дифференцировки клеток и синаптической пластичности во взрослом мозге, предоставляют возможность определить патофизиологические аспекты депрессии и механизмы действия антидепрессантов [115, 129, 173].

В гиппокампе и префронтальной коре (ПФК) жертв суицида [113], а также в плазме крови пациентов с резистентной депрессией [38] наблюдается снижение уровня BDNF.

Изучение вовлеченности BDNF в патогенез депрессии на мышах или крысах предполагает использование моделей депрессивноподобного состояния, способных формировать у животных клинические проявления заболевания. Модели депрессивноподобного состояния, основанные на стрессе, являются одними из наиболее приближенных к депрессии у человека как по этиологии, так и по основным воспроизводимым ими проявлениям заболевания (в частности, ангедонии).

Было установлено, что на модели депрессивноподобного состояния, вызванного хроническим стрессом, у крыс наблюдается снижение уровня BDNF в гиппокампе [117]. Такой же эффект оказывало и введение кортикостерона и дезоксикортикостерона [130, 174] – гормонов, принимающих участие в развитии стрессовой реакции у грызунов.

Показано, что введение BDNF в различные структуры мозга способно оказывать разные, иногда противоположные эффекты. Так, введение BDNF в гиппокамп крыс оказывало антидепрессивный эффект на модели выученной беспомощности и в тесте вынужденного плавания [200]. Введение BDNF в средний мозг крыс также оказывало антидепрессивный эффект в тесте вынужденного плавания и на модели выученной беспомощности [203]. Однако при инъекции мозгового нейротрофического фактора в вентральную область покрышки крыс наблюдался его продепрессивный эффект [86]. Подобные расхождения наблюдаются и в экспериментах с направленным подавлением экспрессии BDNF в определенных участках мозга. Ослабление BDNF-сигналинга в зубчатой извилине гиппокампа крыс приводило к проявлениям ангедонии и снижению двигательной активности, а также уменьшало длительность активного плавания в тесте вынужденного плавания по Порсолту [209]. Однако снижение экспрессии BDNF в прилежащем ядре, напротив, оказывало антидепрессивный эффект, проявляющийся в снижении социального избегания [53].

При хроническом введении антидепрессантов различных групп, в частности селективного ингибитора обратного нейронального захвата серотонина флуоксетина, трициклического антидепрессанта дезипрамина и ингибитора моноаминоксидазы фенелзина, у крыс наблюдается увеличение уровня BDNF в ПФК, при этом гиппокампальный уровень нейротрофина не изменяется [47]. Селективный ингибитор обратного захвата серотонина эсциталопрам усиливает экспрессию мРНК BDNF в гиппокампе при хроническом введении мышам на модели депрессивноподобного состояния, вызванного умеренным непредсказуемым хроническим стрессом, устраняя при этом проявления ангедонии [59]. В исследованиях *in vitro* показано, что ТЦА имипрамин способен

усиливать экспрессию BDNF путем активации CREB через MAPK/ERK сигнальный каскад [208]. Исследования *in vivo* на крысах, подвергнутых стрессу, подтверждают эти данные: наблюдается усиление экспрессии BDNF в ПФК, гиппокампе и миндалевидном теле [189]. Селективный ингибитор обратного захвата норадреналина ребоксетин восстанавливает уровень BDNF и TrkB рецепторов у крыс Спрег-Доули на модели депрессивноподобного состояния, вызванного хроническим непредсказуемым стрессом, увеличивая фосфорилирование ERK в гиппокампе [91].

Накоплены данные о прямом воздействии антидепрессантов на молекулярные мишени BDNF. Антидепрессанты имипрамин, циталопрам, ребоксетин и моклобемид активируют TrkB рецепторы в мозге мышей [185, 217], а флуоксетин, кроме того, направленно активирует PLC γ сайт связывания TrkB [185] и вызывает фосфорилирование CREB в ядре клетки [213].

Вовлеченность фактора роста нервов в патофизиологию депрессии

Роль NGF в патофизиологии депрессии определяется его функциями в ЦНС. NGF участвует в обеспечении выживаемости нейронов и вносит вклад в процессы обучения и памяти, а также опосредует быстрый ответ на стресс в гиппокампе и миндалине мозга [104, 133, 166].

Целый ряд клинических исследований показал, что у больных БДР по сравнению со здоровыми добровольцами снижен уровень NGF в плазме крови [75, 152, 225]. Данный факт подтверждается также мета-анализом 7 клинических исследований [67]. Снижение уровня NGF, а также функции TrkA в гиппокампе показано у жертв суицида (в том числе страдавших депрессивными расстройствами) по сравнению со здоровыми людьми [48, 82, 85].

Данные, полученные в экспериментах на животных, также демонстрируют вовлеченность NGF в патофизиологические механизмы депрессии. Показано, что у крыс, подвергнутых форсированной двигательной активности, наблюдается

статистически значимое снижение концентрации NGF во фронтальной коре и гиппокампе по сравнению с интактным контролем [190]. Снижаются уровни нейротрофина и у крыс с депрессивноподобным состоянием, вызванным стрессом хронической иммобильности (фиксация животного на плоской доске с помощью липкой ленты) [216]. На модели выученной беспомощности у мышей формируется дефицит NGF во фронтальной коре по сравнению с контрольной группой [198]. Показано снижение экспрессии NGF у мышей в модели депрессивноподобного состояния, вызванного 10-дневным стрессом ограничения (содержание в узкой, хорошо вентилируемой пластиковой трубке без доступа к корму и воде ежедневно в течение 4 часов) [37], и депрессивноподобного состояния, вызванного ольфакторной бульбэктомией (удалением обонятельных луковиц) у крыс [206].

Показано, что NGF при хроническом подкожном введении крысам линии *Flinders Sensitive Line* (FSL; генетическая модель депрессии) оказывает антидепрессантоподобный эффект, проявляющийся в тестах вынужденного плавания (увеличение продолжительности активного плавания) и социального взаимодействия (увеличение продолжительности взаимодействия и количества пересечений крысой границы участка с незнакомой особью) [171].

Имеются данные о влиянии антидепрессантов на уровень NGF. 4-недельное введение таких препаратов, как нортриптилин (ТЦА), циталопрам (СИОЗС) и изокарбоксазид (иМАО) приводит к увеличению уровня NGF в гиппокампе и префронтальной коре у крыс [85]. Показано, что 3-недельное пероральное введение атипичного антидепрессанта тианептина (стимулятора обратного нейронального захвата серотонина) мышам линии BALB/c на фоне депрессивноподобного состояния, вызванного умеренным стрессом, предотвращает снижение экспрессии NGF и CREB [37].

Вовлеченность пострецепторных сигнальных путей Trk в патофизиологию депрессии

Несмотря на то, что нейротрофины селективно активируют разные тирозинкиназные рецепторы (TrkA и TrkB соответственно), следующие за этим сигнальные пути как для NGF, так и для BDNF идентичны.

Сигнальные каскады, активируемые нейротрофинами, играют важную роль в развитии депрессивных расстройств. Так, направленное введение в гиппокамп и ПФК крыс ингибитора MAPK U0126 приводит к проявлениям депрессивноподобного состояния (ангедонии и снижению двигательной активности) [183]. Депрессивноподобное состояние, вызванное хроническим стрессом, у крыс сопряжено с выраженным снижением фосфорилирования ERK, а также снижением уровней BDNF и TrkB рецептора в гиппокампе и фронтальной коре [90].

Имеются данные и о роли PI3/АКТ сигнального каскада в патогенезе депрессии. У трансгенных мышей с отсутствием АКТ (*akt*^{-/-}) наблюдались проявления признаков депрессии в тесте вынужденного плавания и тревожности в тестах открытого поля и темно-светлой камеры [131]. Прослеживаются нарушения внутриклеточного PI3K/АКТ сигналинга и на модели депрессивноподобного состояния, вызванного 10-дневным социальным стрессом: у мышей наблюдается выраженное снижение активности АКТ в вентральной области покрышки [125].

Накоплены сведения о взаимосвязи между PLC γ и депрессией. На модели выученной беспомощности у мышей наблюдается снижение активности PLC γ и последующее снижение ее экспрессии гиппокампе и ПФК [83]. Известно, что введение антидепрессантов различных групп (СИОЗС флуоксетина и циталопрама, ТЦА имипрамина, СИОЗН ребоксетина), напротив, приводит к активации TrkB/PLC γ -сигналинга [185].

Подобные изменения свидетельствуют в пользу участия нейротрофинов, их рецепторов и пострецепторных каскадов в ответе на неблагоприятные внешние

факторы, которые являются причиной формирования депрессии и лежат в основе моделирования депрессивноподобного состояния у лабораторных животных.

Описанная взаимосвязь подтверждается посмертными исследованиями биоматериала жертв суицида, страдавших депрессией: в их гиппокампе наблюдается снижение уровней Raf, MEK и ERK [81, 84], а в ПФК – снижение АКТ [114].

Связь моноаминовой и нейротрофиновой гипотез

Факт отсроченности эффекта антидепрессантов от вызываемых ими биохимических изменений способствовал широкому изучению механизмов реализации антидепрессивного действия препаратов, влияющих на моноаминовую нейротрансмиссию. В связи с тем, что антидепрессанты увеличивают уровни моноаминов в синаптической щели уже после однократного введения, становится очевидным, что их терапевтический эффект не напрямую связан с устранением дефицита нейромедиаторов.

С одной стороны, отсроченный эффект антидепрессантов связывают со снижением активности и десенситизацией соматодендритных моноаминовых ауторецепторов, таких как 5-НТ_{1A} ауторецепторы, на фоне введения антидепрессантов. Ауторецепторы соматодендритной области по механизму отрицательной обратной связи регулируют высвобождение моноаминов: при росте количества нейромедиатора в синаптической щели ослабляется его высвобождение из везикул [123]. Длительный прием антидепрессантов приводит к снижению чувствительности ауторецепторов к моноаминам, в связи с чем устраняется их тормозное влияние на передачу сигнала.

С другой стороны, длительный прием антидепрессантов связывают с нейропластическими изменениями, вызываемыми активацией моноаминергических структур, которые включают в себя транскрипционные и трансляционные процессы, занимающие длительное время и лежащие в основе

молекулярных и клеточных механизмов пластичности мозга [175]. Важную роль в данных изменениях играют постсинаптические 5-HT_{1A} рецепторы: мыши, генетически лишенные данного подтипа рецепторов, нечувствительны к нейрогенным и поведенческим эффектам флуоксетина [195]. По-видимому, моноаминовые сигнальные пути способствуют нейрональной пластичности и вносят вклад в адаптацию к стрессовым ситуациям. Введение ингибиторов обратного захвата серотонина усиливает созревание молодых гранулярных клеток, что сопровождается дендритным ветвлением и обеспечивает синаптическую пластичность [137]. Подобные эффекты оказывает BDNF за счет активации TrkB рецепторов, по-видимому, опосредуя эффекты СИОЗС на нейрогенез.

Взаимосвязь BDNF и серотонина отмечается в целом ряде исследований. Установлено, что введение BDNF в средний мозг крыс повышает уровень серотонина и его метаболита – 5-гидроксииндолуксусной кислоты [202], а также усиливает серотонинергическую передачу, способствуя росту и выживаемости серотонинергических аксонов [207]. По-видимому, данный эффект вызван снижением обратного захвата серотонина под влиянием мозгового нейротрофического фактора, для которого *in vitro* показано направленное воздействие на серотониновый белок-переносчик SERT [159]. Примечательно, что данного эффекта для NGF отмечено не было. *В.С. Науменко и соавторами* [162] было показано значительное увеличение экспрессии триптофангидроксилазы-2 – ключевого фермента синтеза серотонина, – а также генов 5-HT_{1A} и 5-HT_{2A} рецепторов через 21 день после острого внутримозгового введения BDNF мышам с предрасположенностью к депрессивноподобному фенотипу (линия ASC – Antidepressants Sensitive Cataleptics). Продолжительное действие однократного введения BDNF свидетельствует в пользу вызываемых им морфологических изменений в синаптических связях и нейрогенезе. Исследования на нокаутных по гену BDNF мышам позволили сделать заключение о критической важности эндогенного BDNF для нормального развития и работы серотонинергических систем мозга, в частности для поддержания функциональной активности серотонинового переносчика и 5-HT_{1A} рецепторов [107, 144].

Существуют данные и об обратной направленной связи. *In vitro* исследования показали, что серотонин усиливает экспрессию гена BDNF и увеличивает уровень нейротрофина в культуре эмбриональных клеток ядер шва [94]. Роль серотонина подтвердилась и в исследованиях с использованием нокаутных по гену серотонинового переносчика мышей. Отсутствие у крыс белка-переносчика приводило к снижению не только метаболизма и уровня серотонина, но и экспрессии BDNF в мозге [155].

Кроме того, показано, что активация антидепрессантами процессов нейрогенеза зависит от BDNF и TrkB. Так, у мышей, нокаутных по генам BDNF и TrkB, не усиливается пролиферация, нейрогенез и выживаемость нейронов на фоне введения антидепрессантов [137, 157, 192], а хроническое введение флуоксетина мышам с однонуклеотидным полиморфизмом val66met и, как следствие, снижением высвобождения BDNF, не оказывает антидепрессивного эффекта [167].

Важной точкой соприкосновения моноаминов и нейротрофинов являются их общие внутриклеточные мишени. В исследованиях *in vitro* показано, что введение норадреналина в изолированную культуру клеток гиппокампа приводит к увеличению в ней уровня BDNF и фосфорилированных форм TrkB и CREB. При этом введение ERK и PI3K ингибиторов устраняет наблюдаемые эффекты [66], что подтверждает общие для норадреналина и нейротрофинов внутриклеточные пути активации CREB и, соответственно, экспрессии генов. Влияние на фосфорилирование CREB *in vitro* установлено и для серотонина [148]. Кроме того, установлена связь постсинаптических 5-HT_{1A} рецепторов с MAPK/ERK-сигнальным каскадом [191].

Эти данные свидетельствуют о тесной взаимосвязи нейротрофиновой и моноаминергической систем, в частности, при реализации эффекта антидепрессантов.

1.2.3. Роль процессов воспаления в патофизиологии депрессии

Результаты исследований, проведенных как на животных, так и с участием людей, показывают, что стресс-восприимчивые структуры ЦНС и иммунитет образуют единую систему, которая в ходе эволюции приобрела функцию защиты организма от широкого спектра угроз из внешней среды. Известно, что под влиянием стрессовых факторов активируется гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось, в результате чего в кровь молниеносно выбрасываются биологически активные вещества – кортизол (кортикостерон у крыс и мышей), катехоламины, провоспалительные цитокины (в частности, интерлейкин-6) [172]. Эти факторы вызывают чрезмерную активацию фермента индоламин-2,3-диоксигеназы (*indoleamine-2,3-dioxygenase, IDO*), локализованного преимущественно в микроглии, астроцитах и нервных клетках [41]. Активация данного фермента смещает равновесие в катаболизме триптофана в сторону синтеза кинуренина – нейро- и эксайтотоксичного вещества, увеличивающего риск нейродегенеративных заболеваний и патогенных процессов. При этом снижается количество триптофана, доступного для синтеза серотонина, что может служить причиной его дефицита и, следовательно, развития депрессивноподобного состояния.

У людей с высоким риском развития депрессивных расстройств, например, перенесших травму в детском возрасте, наблюдается повышенная воспалительная реакция на стрессоры по сравнению с людьми без провоцирующих факторов развития депрессии [172]. Кроме того, существует прямая связь: чем сильнее воспалительный ответ индивида, тем выше вероятность развития у него депрессии в течение нескольких месяцев после воздействия стрессора [45].

Показано, что у лиц пожилого возраста (старше 60 лет), страдающих депрессией, повышен уровень провоспалительного цитокина IL-1 β . При этом чем сильнее выражены проявления депрессии, тем выше уровень цитокина [212]. Подобное явление наблюдается у женщин с послеродовой депрессией по

сравнению с женщинами, у которых депрессия не проявлялась в течение месяца после родов [71]. Показано, что отрицательное влияние стресса на нейрогенез и его способность вызывать ангедонию опосредованы IL-1 β , так как при введении блокатора рецепторов данного интерлейкина предотвращается влияние хронического непредсказуемого стресса на нейрогенез и устраняются проявления ангедонии [122]. Кроме того, непосредственное введение IL-1 β , наряду со стрессом, подавляет пролиферацию клеток гиппокампа [122]. О вовлеченности цитокинов в патогенез депрессии свидетельствуют и данные по исследованию эффектов антидепрессантов. Показано, что ТЦА кломипрамин и имипрамин способны подавлять увеличенное на фоне введения ЛПС высвобождение IL-1 β , IL-6 и ФНО- α моноцитами крови человека [224].

Результаты *in vivo* исследований свидетельствуют о влиянии воспаления на экспрессию BDNF в мозге. Показано, что в/б введение ЛПС мышам-самцам приводит к снижению уровня BDNF в зубчатой извилине, гиппокампе и ПФК [235]. В исследованиях на крысах было установлено, что экспрессия определенных экзонов (кодирующих фрагментов молекулы ДНК) гена BDNF снижена в зубчатой извилине и гиппокампе после однократного введения культуры бактерий *E. coli*, что свидетельствует о возможном влиянии воспалительных процессов на экспрессию гена BDNF [63].

В связи со значительным вкладом воспаления в патогенез депрессии, был проведен целый ряд исследований противовоспалительных средств и веществ, влияющих на иммунную систему. Результаты мета-анализа десяти клинических исследований применения нестероидных противовоспалительных средств (НПВС) как в монотерапии, так и в комбинации с антидепрессантами, показали, что НПВС уменьшают симптомы депрессии по сравнению с плацебо, при этом отдельно подчеркивается эффективность селективного ингибитора циклооксигеназы-2 целекоксиба [119]. Исследования последних лет показывают, что лекарственные средства, воздействующие на систему цитокинов, могут обладать антидепрессивным эффектом. Мета-анализ клинических исследований

применения антагонистов цитокинов при депрессии показал, что анти-ФНО- α моноклональные антитела адалимумаб, инфликсимаб и антагонист рецептора IL-6 тоцилизумаб статистически значимо уменьшают выраженность симптомов депрессии [112].

Имеющиеся экспериментальные данные свидетельствуют в пользу вовлеченности процессов воспаления в патогенез депрессии, что подтверждается *in vivo* и *in vitro* исследованиями, в том числе с применением антидепрессантов, моноклональных антител и противовоспалительных средств.

1.3. Лекарственные средства, применяемые в терапии депрессивных расстройств, и перспективные фармакологически активные вещества, обладающие антидепрессивными свойствами

1.3.1. Классические антидепрессанты

В настоящее время в клинической практике в качестве первой линии терапии депрессивных расстройств применяются лекарственные средства из класса антидепрессантов, действующие на моноаминергические структуры ЦНС. Несмотря на разнообразие антидепрессантов и их повсеместное назначение, они эффективны не более, чем в 60% случаев и требуют длительного (не менее 2 недель) применения для достижения терапевтического эффекта [87, 176].

Характеристика основных групп антидепрессантов представлена в таблице 1. Помимо перечисленных в таблице групп антидепрессантов, в настоящее время широко применяются препараты со смешанным механизмом действия, такие как селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина (дулоксетин, венлафаксин, милнаципран), норадренергические и специфические серотонинергические антидепрессанты (миансерин, мirtазапин). Препараты данных групп могут быть более эффективны в лечении тяжелых форм депрессивных расстройств [210] или обладать более быстрым наступлением терапевтического эффекта [219].

Таблица 1 Характеристика основных групп антидепрессантов

№ п/п	Наименование группы и основные представители	Механизм действия	Эффективность и безопасность
1.	<p align="center"><u>Ингибиторы моноаминоксидазы, иМАО</u> (моклобемид, ниаламид, транилципромин и др.)</p>	<p align="center">Подавление активности фермента моноаминоксидазы, расщепляющего нейромедиаторы серотонин, норадреналин и дофамин, и увеличение их концентрации в синаптической щели</p>	<p align="center">иМАО являются одними из наиболее эффективных антидепрессантов, однако в настоящее время практически не применяются в связи с большим количеством побочных эффектов, иногда угрожающих жизни. Для препаратов данной группы характерны взаимодействия с целым рядом других лекарств, и при их применении требуется соблюдение определенной диеты, исключающей продукты с высоким содержанием тирамина (сыр, вино и т.д.)</p>
2.	<p align="center"><u>Трициклические антидепрессанты, ТЦА</u> (имипрамин, amitриптилин, кломипрамин и др.)</p>	<p align="center">Ингибирование обратного нейронального захвата серотонина, норадреналина и дофамина путем связывания с соответствующими белками- переносчиками. Тем самым увеличивается концентрация нейромедиаторов в синаптической щели</p>	<p align="center">ТЦА по сравнению с иМАО более безопасны, не требуют соблюдения диеты и взаимодействуют не с таким большим количеством лекарственных средств. Для ТЦА характерен целый ряд нежелательных реакций, однако польза от их применения значительно выше потенциального риска развития побочных эффектов (исключение составляют лица с сопутствующими заболеваниями сердечно- сосудистой системы, пожилые люди и т.д.). Препараты данной группы незаменимы в терапии резистентных депрессий</p>
3.	<p align="center"><u>Селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, СИОЗС</u> (пароксетин, флуоксетин, сертралин, циталопрам, эсциталопрам, флувоксамин и др.)</p>	<p align="center">Ингибирование обратного нейронального захвата серотонина путем связывания с соответствующими белками- переносчиками. Тем самым увеличивается концентрация серотонина в синаптической щели</p>	<p align="center">СИОЗС в настоящее время играют важнейшую роль в терапии депрессии. Несмотря на менее выраженный антидепрессивный эффект, чем у ТЦА, препараты данной группы имеют более благоприятный профиль безопасности и реже вызывают опасные побочные эффекты.</p>

1.3.2. Перспективные фармакологически активные вещества с антидепрессивным эффектом

Существующие антидепрессанты по механизму действия являются модуляторами моноаминергических систем. Лекарственные средства для терапии депрессии разрабатывались достаточно давно, и в качестве теоретического обоснования их механизма действия была взята в основу моноаминовая теория депрессивных расстройств. В настоящее время, в свете развития представлений о патогенезе депрессии, очевидным становится необходимость разработки антидепрессантов принципиально нового механизма действия.

Научным сообществом по всему миру активно исследуются различные фармакологически активные вещества, демонстрирующие антидепрессивную активность.

Кетамин

Кетамин является неконкурентным антагонистом NMDA рецепторов. Связываясь с аллостерическим центром на ионном канале, кетамин напрямую блокирует его, при этом участок связывания глутамата остается свободным (рис. 5). Кетамин угнетает функцию нейронов ассоциативной (задней теменной) коры головного мозга и таламуса, одновременно стимулируя лимбическую систему, в частности, гиппокамп. Механизм антидепрессивного действия кетамина связывают с блокадой NMDA рецепторов ГАМК (гамма-аминомасляная кислота)-ергических интернейронов, что приводит к резкому высвобождению глутамата и активации AMPA (α -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовая кислота) рецептора с последующим

высвобождением BDNF и активацией Trk-ассоциированных мишеней, в частности mTOR [79,147, 228].

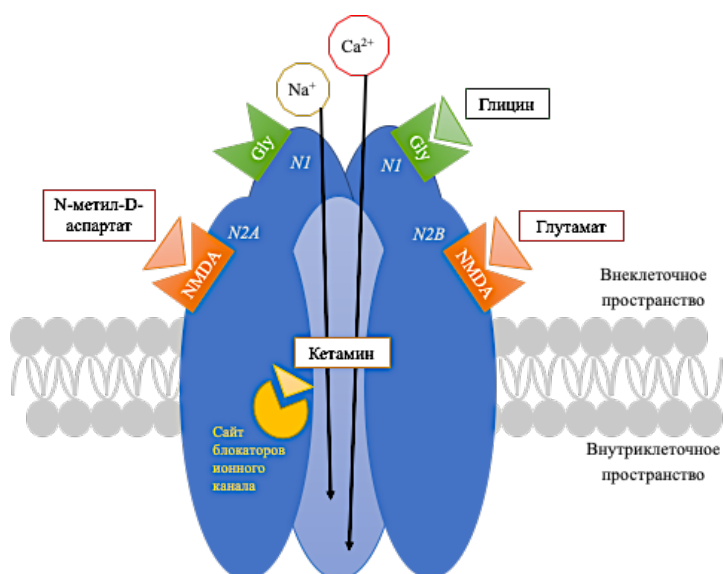





Рис. 5 Схема строения NMDA рецептора

N1, N2A, N2B – субъединицы рецептора

-  – аллостерический центр связывания глутамата и N-метил-D-аспартата,
-  – аллостерический центр связывания глицина (глициновый сайт),
-  – аллостерический центр связывания кетамина и других блокаторов ионного канала.

Антидепрессивное действие кетамина было показано на различных моделях депрессивноподобного состояния: на модели выученной беспомощности и в тесте подвешивания за хвост у крыс [120]; в тесте вынужденного плавания у мышей [65]; на модели депрессивноподобного состояния, вызванного умеренным хроническим стрессом [145] и социальным стрессом у мышей [236].

Антидепрессивный эффект рацемата кетамина подтвердился в клинических исследованиях. Кетамин снижал проявления депрессии у больных с БДР [52] и биполярным расстройством [232]. Двойное слепое плацебо-контролируемое клиническое исследование показало эффективность внутривенного введения кетамина как дополнительной терапии резистентной депрессии [88].

В связи с многообещающими результатами исследований компанией Janssen Pharmaceutical в США был разработан и изучен (*S*)-кетамин в форме назального

спрея. Выбор левовращающего изомера кетамина был обусловлен результатами рандомизированного двойного слепого многоцентрового плацебо-контролируемого клинического исследования, в котором (*S*)-кетамин при внутривенном введении оказывал быстрое и выраженное антидепрессивное действие у больных с резистентной депрессией [201]. Несмотря на то, что положительный эффект левовращающего кетамина подтвердился только в двух из пяти клинических исследований III фазы, (*S*)-кетамин в форме назального спрея в мае 2019 года был одобрен FDA под торговым наименованием Spravato® для применения у больных резистентной депрессией, не отвечающих как минимум на два рационально подобранных курса классической антидепрессивной терапии [215], при этом применение препарата возможно только под наблюдением лечащего врача ввиду возможности развития диссоциативных расстройств [111].

Рапастинел (*Rapastinel*)

Выраженный антидепрессивный эффект кетамина определил интерес к разработке и исследованию других активных глутаматергических модуляторов, не уступающих кетамину по эффективности, но лишенных серьезных побочных эффектов со стороны нервной системы и психики. Одним из таких соединений является тетрапептид *Rapastinel* (далее – рапастинел), частичный агонист глицинового сайта NMDA рецептора (см. рис. 5). Механизм антидепрессивного действия рапастинела схож с кетаминем [158]. Рапастинел, подобно кетамину, активирует mTOR-сигналинг с последующим AMPA-зависимым высвобождением BDNF [132].

Об антидепрессивном действии рапастинела сообщается в целом ряде доклинических исследований с использованием различных моделей депрессии на грызунах. Активность рапастинела проявлялась в тесте вынужденного плавания, на моделях вызванной новизной гипофагии и выученной беспомощности на

крысах [58], а также на моделях хронического непредсказуемого стресса [227] и социального стресса на мышах [226].

Терапевтическая эффективность рапастинела у людей исследовалась в двойном-слепом рандомизированном плацебо-контролируемом клиническом исследовании II фазы с участием пациентов, страдающих большим депрессивным расстройством и не отвечающих на лечение классическими антидепрессантами. В результате исследования рапастинел при внутривенном введении снижал выраженность депрессивных симптомов уже на первый день лечения и до седьмого, не вызывая при этом диссоциативных или психотомиметических побочных эффектов [182].

Клинические исследования III фазы производились компанией Allergan, приобретшей права на рапастинел. В марте 2019 года компания заявила, что конечные точки терапии рапастинелом статистически значимо не отличались от плацебо в трех рандомизированных двойных-слепых исследованиях эффективности рапастинела в комбинации с пероральными антидепрессантами у пациентов с БДР [68], в связи с чем на настоящий момент рапастинел не одобрен FDA для использования в клинической практике и не зарегистрирован в качестве лекарственного препарата.

7,8-дигидроксифлавонон (*7,8-dihydroxyflavone*)

Низкомолекулярные агонисты Trk-рецепторов, обладающие более привлекательными фармакокинетическими и физико-химическими свойствами и не уступающие нативным нейротрофинам в эффективности, являются перспективными веществами, разработка которых может привести к созданию принципиально новых по механизму действия антидепрессивных лекарственных средств.

Одним из наиболее активно изучаемых агонистов TrkB-рецептора является соединение из группы флавоноидов – 7,8-дигидроксифлавонон (*7,8-dihydroxyflavone*,

7,8-DHF). Данное соединение привлекло внимание ученых в процессе поиска молекул, способных имитировать действие BDNF, – миметиков мозгового нейротрофического фактора. Исследование *in vitro* показало, что 7,8-DHF связывается с TrkB рецептором в соотношении 1:1 с константой диссоциации (K_d), равной 320 nM, при этом для BDNF K_d составила 1,7 nM [138]. Кроме того, для 7,8-DHF была показана интернализация лиганд-рецепторного комплекса с образованием сигнальной эндосомы – механизм, характерный для эндогенного нейротрофина [142]. Важно отметить, что низкомолекулярный флавоноид способен проходить через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), что позволяет рассматривать его в качестве потенциального лекарственного средства-антидепрессанта [141]. Исследования пострецепторных сигнальных путей, активируемых 7,8-DHF, показали, что флавоноид усиливает фосфорилирование АКТ, PLC γ [50, 223] и MAPK [40].

Примечательные данные получены в исследованиях с применением различных моделей депрессивноподобного состояния у мышей. Введение бактериального эндотоксина – липополисахарида (*lipopolysaccharide*, LPS) – мышам линии C57BL/6 приводит к развитию депрессивноподобного состояния, при этом внутрибрюшинная инъекция 7,8-DHF через 23 ч после LPS оказывает антидепрессантоподобное действие: в тесте вынужденного плавания и подвешивания за хвост введение флавоноида устраняло вызванное LPS увеличение времени иммобильности [235]. 7,8-DHF дозе 10 мг/кг снижал время иммобильности до уровня, сопоставимого с интактным контролем (мыши, которым не вводился LPS). Сравнительное исследование 7,8-DHF и кетамина на модели 10-дневного социального стресса у мышей линии C57BL/6 показало следующее: 7,8-DHF и кетамин демонстрировали сравнимую активность в тесте вынужденного плавания и подвешивания за хвост, снижая время иммобильности у стрессированных мышей до уровня интактного контроля, в то время как в тесте предпочтения раствора сахарозы флавоноид значительно уступал кетамину в антиангедоническом эффекте [236]. Антидепрессивный эффект 7,8-DHF

подтвердился и на модели непредсказуемого хронического умеренного стресса: хроническое введение 7,8-DHF устраняло проявления ангедонии, восстанавливая потребление сахарозы до уровня нестрессированного контроля, и снижало латентный период в тесте гипофагии, устраняя снижение активации TrkB [237].

Результаты исследований 7,8-DHF как с использованием поведенческих тестов и моделей депрессивноподобного состояния, вызванного стрессом, так и биохимических методов свидетельствуют в пользу наличия у агонистов TrkB рецепторов антидепрессивного эффекта, механизмы реализации которого, по-видимому, близки к таковым для эндогенного BDNF.

Дипептидные миметики нейротрофинов

В начале 2000-х годов в НИИ фармакологии им. В.В. Закусова академиком С.Б. Середениным была поставлена задача создания низкомолекулярных миметиков нейротрофинов, обладающих высокой активностью и при этом лишенных побочных эффектов полноразмерных белков. Для создания таких миметиков член-корреспондентом РАН Т.А. Гудашевой были сформулированы рабочие гипотезы: 1) миметики разных петлеобразных структур могут иметь различную картину активации пострецепторных сигнальных путей, что может позволить расщепить разные эффекты нейротрофинов; 2) фармакофорными участками нейротрофинов являются центральные дипептидные фрагменты бета-изгибов петель, которые по геометрическим соображениям могут наиболее глубоко проникать в рецептор; 3) для получения миметиков со свойствами агонистов Trk необходимы димерные структуры по аналогии с гомодимерами прародительских нейротрофинов. На основе этих гипотез были сконструированы и синтезированы миметики, содержащие наиболее экспонированную дипептидную последовательность бета-изгиба соответствующей петли (чаще всего ее центральный фрагмент) и биоизоостер предшествующего остатка, свободный от N-концевой аминокислотной группы и ее положительного заряда, что придает миметикам

устойчивость к гидролизу аминопептидазами. С целью воспроизведения димерной структуры использовали олигометилендиамидные (чаще всего гексаметилендиамидные) спейсеры «голова-к-голове».

На основе структур бета-изгибов первой и четвертой петель NGF были получены миметики ГК-6 (гексаметилендиамид бис-(6-аминокапроил-глицил-L-лизина)) и ГК-2 (гексаметилендиамид бис-(N-сукцинил-L-глутамил-L-лизина)), соответственно. По данным вестерн-блот анализа оба миметика активировали TrkA, но имели разную картину активации пострецепторных сигнальных путей: ГК-6 активировал PI3K/АКТ, MAPK/ERK и PLC γ , а ГК-2 активировал PI3K/АКТ и PLC γ [180, 9, 29]. ГК-2 и ГК-6 обладали нейропротекторной активностью *in vitro* в условиях окислительного стресса на иммортализованных клетках гиппокампа мыши линии HT22 в концентрации до 10^{-8} М [180, 29]. ГК-2 проявлял нейропротекторную активность при субхроническом в/б введении в дозах 0,5-1,0 мг/кг/сутки на модели ишемического инсульта, вызванного транзиторной окклюзией средней мозговой артерии у крыс, при этом эффект миметика проявлялся при введении как через 1 ч, так и через 24 часа после инсульта [23, 30]. Нейропротекторная активность ГК-2 *in vivo* подтвердилась на моделях двусторонней фокальной фотоиндуцированной ишемии префронтальной коры головного мозга у крыс, а также хронической ишемии головного мозга у крыс, вызванной необратимой двусторонней перевязкой сонных артерий [19, 27]. Установлено, что ГК-2 обладает антипаркинсоническими свойствами в дозах 0,01-5,00 мг/кг на модели галоперидоловой каталепсии у крыс и в дозе 1,0 мг/кг на модели паркинсонического синдрома, вызванного введением 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридина [18]. Выявлен выраженный антидиабетический эффект ГК-2 при хроническом введении на модели стрептозотоцинового сахарного диабета 2 типа как у крыс (0,5 мг/кг в/б или 5,0 мг/кг п/о) [33], так и у мышей (0,5 мг/кг в/б) [20]. ГК-2 также проявлял активность на моделях болезни Альцгеймера. На модели септо-гиппокампальной перерезки ГК-2 (1,0 мг/кг в/б субхронически) предотвращал у крыс нарушения обучения в открытом поле, а в условиях холинергического дефицита, вызванного скополамином, ГК-2

(0,2 мг/кг в/б хронически) предотвращал у крыс нарушение способности к пространственному обучению в лабиринте Морриса [21]. В отличие от полноразмерного NGF, вызывающего гиперальгезию, ГК-2 (по-видимому, из-за избирательной активации PI3K/АКТ) проявляет анальгетическую активность в тесте отдергивания хвоста у крыс в дозах 1,0 и 2,0 мг/кг в/б, в то время как ГК-6, активирующий все три сигнальных пути, при тех же условиях болевой порог снижает [98]. Установлено, что ГК-2 обладает низкой токсичностью и способен проникать через ГЭБ [12].

На основе бета-изгибов 1-й, 2-й и 4-й петель BDNF были получены их димерные дипептидные миметики ГСБ-214 (гептаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-метионил-L-серина)), ГТС-201 (гексаметилендиамид бис-(N-гексаноил-L-серил-L-лизина)) и ГСБ-106 (гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-серил-L-лизина)), соответственно. По результатам вестерн-блот анализа для всех миметиков BDNF установлена способность активировать TrkB, однако картина пострецепторного сигналинга для каждого миметика индивидуальна. ГСБ-106, аналогично нативному нейротрофину, активировал PI3K/АКТ, MAPK/ERK и PLC γ [4, 9]; ГСБ-214 активировал PI3K/АКТ и PLC γ [99, 9], а ГТС-201 – MAPK/ERK и PLC γ [9, 25] сигнальные каскады. Все миметики BDNF *in vitro* проявляли нейропротекторную активность в концентрациях 10^{-6} – 10^{-8} М, защищая иммортализованные клетки гиппокампа мыши линии HT22 от окислительного стресса, индуцированного пероксидом водорода, при этом наиболее выраженное действие, сопоставимое с BDNF, оказывал ГСБ-106 [3, 25]. Нейропротекторное действие ГСБ-106 *in vitro* подтверждалось на клетках нейробластомы человека линии SH-SY5Y в условиях действия нейротоксина 6-гидроксидофамина, а также на культуре иммортализованных нейронов гиппокампа линии HT-22 в условиях глутаматной токсичности [13]. Нейропротекторная активность миметиков 1-й (ГСБ-214) и 4-й (ГСБ-106) петель BDNF показана также в исследованиях *in vivo* в дозе 0,1 мг/кг на модели ишемического инсульта у крыс, вызванного транзиторной окклюзией средней мозговой артерии, при этом миметик 2-й петли BDNF ГТС-201 активность

в этих условиях не проявлял [99]. Показано наличие антидиабетического эффекта на модели стрептозотоцинового сахарного диабета 2 типа на мышах у соединения ГСБ-214, в паттерне активации пострецепторного сигналинга которого присутствует РІЗК/АКТ, и отсутствие эффекта у ГТС-201, у которого активация РІЗК/АКТ отсутствует; у соединения ГСБ-106, активирующего *in vitro* все три сигнальных пути, обнаружена слабо выраженная антидиабетическая активность (миметики вводили в дозе 0,5 мг/кг в/б хронически) [16]. Полученные данные указывают на преимущественную роль активации сигнального пути РІЗК/АКТ в реализации антидиабетического эффекта миметиков нейротрофинов, что было подтверждено результатами фармакологического ингибиторного анализа: введение ингибитора РІЗК – соединения LY294002 – устраняло антидиабетический эффект ГСБ-214 [34]. Аналогично полноразмерному нейротрофину ГСБ-106 обладает анальгетической активностью: при однократном в/б введении в дозах 0,1 и 1,0 мг/кг ГСБ-106 оказывал анальгетический эффект в тестах горячей пластины и отдергивания хвоста у крыс в промежутки времени от 0,5 до 48 ч после введения [100]. Были получены предварительные данные об антидепрессантоподобной активности ГСБ-106 при в/б введении: миметик был активен в тесте вынужденного плавания с вращающимися колесами по Номура на беспородных крысах при однократном введении в дозах 0,1 и 0,5 мг/кг и в тесте подвешивания за хвост на беспородных мышах при субхроническом введении в дозах 1,0 и 1,5 мг/кг [28]. Установлено, что ГСБ-106 нетоксичен [1] и способен проникать через ГЭБ [121].

Исследования антидепрессантоподобных свойств миметиков нейротрофинов ранее не проводились, за исключением предварительного эксперимента с ГСБ-106 [28].

1.4. Заключение

Депрессия является распространенным заболеванием, причины развития которого до конца неизвестны. В настоящее время широкое развитие получают гипотезы депрессивных расстройств, отходящие от классической моноаминовой парадигмы и связывающие патогенез заболевания с дисфункциями различных систем организма, в частности – с дефицитом нейротрофинов.

На сегодняшний день основные лекарственные препараты для лечения депрессии имеют моноаминергические механизмы действия и эффективны не более, чем в 60% случаев. Исследования последних десятилетий позволили установить, что в механизме антидепрессивного действия классических антидепрессантов (ТЦА, СИОЗС и др.), модуляторов глутаматергической системы (кетамин и рапастинел), а также агониста TrkB (7,8-дигидроксифлавонол) ключевую роль играют нейротрофинозависимые процессы, такие как синаптическая пластичность, нейро- и синаптогенез, опосредованные Trk-сигналингом (активация PI3K/AKT/mTOR, транскрипционного фактора CREB и проч.).

Целью данного исследования является изучение антидепрессивных свойств миметиков NGF и BDNF – дипептидных молекул, имитирующих действие эндогенных нейротрофинов. Актуальность работы и перспектива создания на основании наиболее активного миметика антидепрессанта с принципиально новым механизмом действия подтверждается вышеописанными литературными данными и соответствует современным представлениям о патогенезе и патофизиологии депрессивных расстройств.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Экспериментальные животные

Работа была выполнена на инбредных мышах-самцах линий C57BL/6 и BALB/c. Также в исследовании были использованы аутбредные мыши ICR (CD-1). Всего в работе использовано 698 мышей. Все животные были получены из питомников, аккредитованных и сертифицированных в соответствии с международными требованиями, и содержались в условиях вивария при естественной смене циклов «день/ночь» и со свободным доступом к стандартному гранулированному корму и воде. Содержание животных и проводимые с ними манипуляции осуществлялись в соответствии с требованиями Решения Совета ЕЭК №81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического Союза в сфере обращения лекарственных средств». Все исследования с использованием животных согласованы и одобрены биоэтической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

2.2. Материалы и реактивы

Объектами исследования являлись димерные дипептидные миметики NGF (ГК-2 и ГК-6) и BDNF (ГСБ-106, ГСБ-214, ГТС-201). Описание соединений представлено в таблице 2. Все исследуемые миметики синтезированы в отделе химии лекарственных средств ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», как описано ранее [3, 15, 24-26].

Таблица 2. Наименования, структурные формулы и физико-химические показатели миметиков NGF и BDNF

Миметик	Структурная формула и химическое название	Петля нейротрофина	Удельный угол оптического вращения, $[\alpha]_D$, град.	Температура плавления, °С
Миметики NGF				
ГК-2 [15]	$\begin{array}{l} \text{HOOC-(CH}_2\text{)}_2\text{-CO-Glu-Lys-NH} \\ \text{HOOC-(CH}_2\text{)}_2\text{-CO-Glu-Lys-NH} \end{array} \begin{array}{l} \diagdown \\ \diagup \end{array} \text{(CH}_2\text{)}_6$ <p>гексаметилендиамид бис-(<i>N</i>-сукцинил-<i>L</i>-глутамил-<i>L</i>-лизина)</p>	4-я	$[\alpha]^{22}_D = - 52,5^\circ$ (с 1,06; H ₂ O)	120–128°С с разлож.
ГК-6 [10]; [Патент РФ № 2410392].	$\begin{array}{l} \text{NH}_2\text{(CH}_2\text{)}_5\text{-CO-Gly-Lys-NH} \\ \text{NH}_2\text{(CH}_2\text{)}_5\text{-CO-Gly-Lys-NH} \end{array} \begin{array}{l} \diagdown \\ \diagup \end{array} \text{(CH}_2\text{)}_6$ <p>гексаметилендиамид бис-(6-аминокапроил-глицил-<i>L</i>-лизина)</p>	1-я	$[\alpha]^{27}_D = - 129,6^\circ$ (с 0,17; H ₂ O)	масло
Миметики BDNF				
ГСБ-106 [3]	$\begin{array}{l} \text{HOOC-(CH}_2\text{)}_2\text{-CO-Ser-Lys-NH} \\ \text{HOOC-(CH}_2\text{)}_2\text{-CO-Ser-Lys-NH} \end{array} \begin{array}{l} \diagdown \\ \diagup \end{array} \text{(CH}_2\text{)}_6$ <p>гексаметилендиамид бис-(<i>N</i>-моносукцинил-<i>L</i>-серил-<i>L</i>-лизина)</p>	4-я	$[\alpha]^{21}_D = - 42,3^\circ$ (с ,1; H ₂ O)	153–161°С
ГСБ-214 [3]	$\begin{array}{l} \text{HOOC-(CH}_2\text{)}_2\text{-CO-Met-Ser-NH} \\ \text{HOOC-(CH}_2\text{)}_2\text{-CO-Met-Ser-NH} \end{array} \begin{array}{l} \diagdown \\ \diagup \end{array} \text{(CH}_2\text{)}_7$ <p>гептаметилендиамид бис-(<i>N</i>-моносукцинил-<i>L</i>-метионил-<i>L</i>-серина)</p>	1-я	$[\alpha]^{25}_D = + 9,0^\circ$ (с 0,4; ДМФА)	162–163°С
ГТС-201 [26]	$\begin{array}{l} \text{CH}_3\text{(CH}_2\text{)}_4\text{-CO-Ser-Lys-NH} \\ \text{CH}_3\text{(CH}_2\text{)}_4\text{-CO-Ser-Lys-NH} \end{array} \begin{array}{l} \diagdown \\ \diagup \end{array} \text{(CH}_2\text{)}_6$ <p>гексаметилендиамид бис-(<i>N</i>-гексаноил-<i>L</i>-серил-<i>L</i>-лизина)</p>	2-я	$[\alpha]^{25}_D = - 14,9^\circ$ (с 0,6; MeOH);	110–125°С с разлож.

Для перорального введения использовали лекарственную форму ГСБ-106, разработанную опытно-технологическим отделом ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» и состоящую из 1% фармацевтической субстанции ГСБ-106 и 99% наполнителя (смесь лактозы, микрокристаллической целлюлозы, сополимера полиэтиленгликоля-поливинилового спирта и стеарата магния). Перед введением лекарственную форму суспендировали в 1% растворе крахмала.

В ряде тестов в качестве препарата сравнения использовался трициклический антидепрессант амитриптилин в лекарственной форме раствора для внутримышечного и внутривенного введения производства ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия (серия 20518).

В качестве плацебо и растворителей использовали раствор хлорида натрия 0,9 % (физ. р-р) в лекарственной форме раствора для инфузий производства ООО «Мосфарм», Россия (серия 0130119) и диметилсульфоксид (ДМСО) ХЧ производства ООО ТД «Химмед», Россия.

В исследованиях с применением метода нейроиммунной стимуляции был использован бактериальный эндотоксин – липополисахарид *E.coli*, серотип 0127:B8, «Sigma Aldrich».

Для проведения вестерн-блот анализа использовались следующие материалы: лизирующий буфер (50 мМ трис-НСl, 5 мМ ЭДТА, 1 мМ дитиотреитол, 1% тритон X-100; рН 7,5), содержащий смесь протеаз (пепстатин, бестатин, лейпептин и апротинин) производства «Sigma-Aldrich», США); буферный раствор (50 мМ трис-НСl, 150 мМ NaCl, 1 мМ ЭДТА, 1 мМ ЭГТА, 1 мМ ДТТ, 1% тритон X-100, 0,5% Na-деоксихолат, 0,1 % СДС, 10% глицерол, 1 мМ Na₃VO₄; рН = 7,8); первичные антитела к синаптофизину (BD Bioscience, США), CREB, pCREB, BDNF (Cell Signaling technology, США) и бета-актину (Abcam, США); вторичные козы антитела против IgG кролика (Santa Cruz Biotechnology, США), конъюгированные с пероксидазой хрена (Sigma-Aldrich, США); трис-буфер, содержащий 1% твина 20 (TBST); реагенты-усилители хемилюминесценции (ECL-реагенты, «Santa Cruz Biotechnology», США); реактив Фолина.

2.3. Статистическая обработка

Статистическая обработка результатов исследования осуществлялась с помощью программного обеспечения «Prism 8» (GraphPad Software, США). Нормальность распределения в выборках оценивалась с помощью критерия Шапиро-Уилка. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью параметрических и непараметрических методов анализа: одно- и двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, критерий Фишера критерий Даннета, критерий Манна-Уитни, критерий Краскела-Уоллиса, критерий Тьюки. Различия между группами считались достоверными при $p \leq 0,05$.

2.4. Поведенческие тесты

2.4.1. Тест вынужденного плавания

Краткая характеристика

Тест вынужденного плавания (*Forced swim test*, FST) моделирует поведение отчаяния и основан на явлении, при котором у животных (крыс, мышей) в ходе плавания в сосуде с водой, из которого нет возможности выбраться, наблюдается характерная неподвижная поза (иммобильность) [177, 178]. При попадании в воду животные сперва предпринимают активные попытки поиска выхода из стрессовой ситуации, однако по истечении определенного времени (латентный период) зависают в воде в позе иммобильности, при этом тело животных остается полностью неподвижным, а лапы могут совершать незначительные движения с целью поддержания головы над поверхностью воды. Иммобильность животного в данном тесте расценивается как поведенческое отчаяние, депрессивноподобное состояние. При этом введение животным антидепрессантов различных групп приводит к сокращению времени иммобильности [177, 178].

Тест вынужденного плавания – одна из наиболее широко и часто применяемых моделей для скрининга потенциальных антидепрессантов и в сравнительных исследованиях, где в качестве положительного контроля используются классические антидепрессанты (амитриптилин, флуоксетин и др.).

Среди преимуществ теста вынужденного плавания стоит отметить быстроту и простоту его проведения, отсутствие необходимости закупки дорогостоящего оборудования для проведения теста. Кроме того, тест в достаточной мере информативен и надежен, и при тестировании потенциальных антидепрессантов имеет высокую прогностическую валидность – способность достаточно точно и обоснованно предсказывать наличие антидепрессивного эффекта у исследуемого соединения [229].

Основным оцениваемым показателем в тесте вынужденного плавания является суммарное время иммобильности животного – сумма эпизодов иммобильности на протяжении всего времени теста. При наблюдаемом снижении времени иммобильности делают вывод о наличии антидепрессивного эффекта у исследуемого соединения [60].

Методика

Установка для проведения теста на мышах (производства ООО «НПК Открытая наука») представляет собой батарею из 5 цилиндров диаметром 10 см и высотой 30 см каждый, изготовленных из прозрачного пластика. Между цилиндрами установлены черные или белые (в зависимости от цвета шерсти животных) пластиковые непрозрачные перегородки, предотвращающие визуальный контакт животных в процессе проведения исследования. Позади цилиндров имеется черная или белая пластиковая основа, поддерживающая перегородки и служащая фоном для наблюдения за поведением животных. Цилиндры заполняются на $2/3$ водой комнатной температуры. Уровень воды обеспечивает невозможность животному опираться на дно цилиндра лапами или хвостом.

Животных помещали в воду по одной особи в цилиндр, засекая время. В ходе эксперимента производилась видеозапись на камеру, установленную на штативе перед установкой, а также осуществлялся визуальный контроль за животными. Эксперимент выполнялся согласно протоколам с одной 6-минутной сессией плавания [60] или двумя сессиями (претест и 5-минутная тестовая сессия плавания) [177]. Спустя установленное время животных поочередно в том же порядке доставали из цилиндров специальным ситом и помещали в отдельную клетку для высушивания и согревания, после чего возвращали в домашние клетки. Полученные видеозаписи обрабатывали с помощью программы RealTimer (ООО «НПК Открытая Наука», Россия) или AnyMaze (Stoelting Co., Ирландия) с определением суммарного времени иммобильности.

2.4.2. Тест предпочтения сахарозы

Краткая характеристика

Установлено, что грызуны от природы проявляют большой интерес к сладкому корму или подслащенной жидкости и выборочно пьют сладкий раствор при наличии выбора с водой. Депрессивноподобное состояние у грызунов, вызванное различными видами стресса, приводит к снижению предпочтения сладкого раствора, а введение антидепрессантов способствует восстановлению данного параметра [96, 143, 205, 221]. Данное наблюдение открыло возможность использования предпочтения сахарозы как критерия оценки развития ангедонии у грызунов. Исследования депрессивноподобных состояний у грызунов показывают, что концентрация 1% (вес/объем) раствора сахарозы является оптимальной для установления ангедонии в данном тесте [140, 221].

В ходе проведения теста регистрируют потребление животными раствора сахарозы и воды с последующим расчетом предпочтения сладкого раствора по отношению к общему объему потребленной жидкости по формуле:

$$\text{Предпочтение} = \frac{M_{\text{потребленного раствора сахара}}}{M_{\text{потребленного раствора сахара}} + M_{\text{потребленной воды}}} \times 100\%$$

Методика

Тест проводился согласно [236]. Мышам предоставлялся свободный доступ одновременно к двум предварительно взвешенным поилкам, одна из которых содержала воду, а вторая – 1% раствор сахарозы. Спустя 24 или 48 ч после предоставления выбора поилки взвешивали и убирали на 4 ч вместе с кормом в рамках депривации. После депривации возвращали поилки еще на 1 ч, после чего их снова взвешивали. На основании полученных данных по вышеуказанной формуле рассчитывали предпочтение сахарозы.

2.4.3. Тест двигательной активности

Краткая характеристика

Снижение двигательной активности наряду с гипотимией и ангедонией является ключевым симптомом депрессивных расстройств у людей, согласно DSM-V. У животных данный симптом также сопряжен с депрессивноподобным состоянием и тревожностью. Установлено, что на модели депрессивноподобного состояния, вызванного социальным стрессом, у мышей формируется выраженный дефицит двигательной активности по сравнению с интактным контролем [143]. Кроме того, двигательная активность у мышей значительно снижается на модели депрессивноподобного состояния, вызванного введением липополисахарида [73].

Двигательная активность животного определяется пройденным им расстоянием за определенный промежуток времени в метрах или условных единицах (у.е.) в случае использования специальных приборов – актиметров.

Методика

Двигательную активность мышей регистрировали в инфракрасном актиметре производства Panlab (Испания) с программным обеспечением «ActiTrack». Мышей по двое помещали в противоположные сектора актиметра, отделенные перегородками, и на протяжении 3 мин регистрировали двигательную активность в у.е.

2.5. Экспериментальные модели депрессивноподобного состояния

2.5.1. Модель депрессивноподобного состояния, вызванного социальным стрессом

Краткая характеристика

Стресс социальной этиологии является фактором развития депрессивных расстройств практически у всех видов высших животных. Отмечено, что у людей на фоне социального поражения могут формироваться или усиливаться симптомы депрессии, тревоги, социального отчуждения [54]. В связи с тем, что большинство стрессовых раздражителей, провоцирующих у человека депрессивные расстройства, носят социальный характер, модель социального стресса у животных в настоящее время привлекает все больше внимания как наиболее близкая к человеческой патологии [105].

В экспериментальной модели социального стресса грызунов помещают в условия, при которых одно животное приобретает доминирующий статус, а другое, в конечном счете, статус побежденного. В результате такого взаимодействия у «жертвы» формируются фенотипические проявления депрессивноподобного состояния, коррелирующие с симптомами депрессии у людей, а введение антидепрессантов грызунам корректирует эти изменения [105].

Модель социального стресса имеет хорошую доверительную (*face validity*), прогностическую (реакция на терапию антидепрессантами) и этологическую (приближенность к патологии у человека) валидность, феноменологическое сходство и аналогичную патофизиологию с депрессивными расстройствами у людей [105].

В результате моделирования депрессивноподобного состояния у мышей развиваются: социальное избегание, регистрируемое в соответствующем тесте, дефицит двигательной активности и проявления ангедонии в тесте предпочтения

сахарозы [236]. Оценку факта сформированного депрессивноподобного состояния проводят в поведенческих тестах, сравнивая показатели с таковыми у контрольной группы животных, не подвергнутых стрессу. Эффекты потенциальных антидепрессантов и препаратов сравнения оценивают у стрессированных животных по отношению к животным, подвергнутым социальному стрессу, но не получавшим препараты.

Методика

Депрессивноподобное состояние моделировали у мышей-самцов линии C57BL/6. В качестве «агрессоров» использовались мыши C57BL/6 [46] или беспородные мыши [236]. Животных помещали по две особи в клетки 28x14x10 см, разделенные пополам прозрачной перфорированной перегородкой из плексигласа таким образом, чтобы у них сохранялся зрительный и сенсорный контакт при отсутствии возможности физического взаимодействия, и так содержали мышей в течение двух суток. На третьи сутки и далее ежедневно в одно и то же время на протяжении 10 или 28 дней перегородку убирали на 10 минут, тем самым обеспечивая возможность социальных конфронтаций (драк) между животными. Уже в ходе первых эпизодов стрессирования в каждой клетке выделяли «жертву» – самца, который не нападал, а оборонялся от атак и занимал характерную позу «покорности» – и помечали ее. Регулярно производили ротацию «жертв», пересаживая их в клетки к незнакомым «агрессорам», тем самым усиливая влияние стрессового фактора. В случае чрезмерной агрессии по отношению к жертве и угрозе ее жизни (продолжающиеся укусы даже после того, как «жертва» продемонстрировала позу «покорности») перегородку возвращали на место до истечения 10 минут, тем самым прекращая конфронтацию.

В результате стрессирования получали самцов со сформированным депрессивноподобным фенотипом, который подтверждался в соответствующих поведенческих тестах или с помощью биохимических методов.

2.5.2. Модель депрессивноподобного состояния, вызванного введением индуктора воспаления – липополисахарида

Краткая характеристика

Модель депрессивноподобного состояния, вызванного введением индуктора воспаления липополисахаридом, базируется на данных о роли процессов воспаления в патофизиологии депрессивных расстройств. Модель, разработанная на грызунах, основана на введении ЛПС для формирования воспалительного ответа. В результате происходящих биохимических изменений у животных формируется депрессивноподобный фенотип, сопровождающийся ангедонией, дефицитом двигательной активности и когнитивными нарушениями [168, 187, 235]. Наличие сформированной патологии оценивают в соответствующих тестах по сравнению с контрольной группой, которой ЛПС не вводили. В случае успешного моделирования оценивают эффект исследуемых соединений и препарата сравнения по сравнению с группой, которой вводили ЛПС, но не вводили исследуемые вещества. Важно отметить, что вызываемое ЛПС состояние устраняется как антидепрессантами, так и противовоспалительными средствами [93], что свидетельствует о высокой прогностической валидности метода.

Методика

Депрессивноподобное состояние моделировали у мышей-самцов линии C57BL/6 согласно [235]. ЛПС суспендировали в 0,9% физ. р-ре и вводили однократно внутрибрюшинно в дозе 0,5 мг/кг. Спустя 24-25 ч у животных регистрировали развитие ангедонии в тесте предпочтения сахарозы.

2.6. Описание иммунобиологических методов

2.6.1. Вестерн-блот анализ

Краткая характеристика

Вестерн-блот анализ – это метод иммуноанализа, разработанный в конце 1970-х годов и позволяющий обнаруживать наличие или отсутствие определенных белков в крови или ткани.

Вестерн-блот анализ основан на разделении белков по их молекулярной массе с помощью электрофореза в полиакриламидном геле, переносе их на твердый носитель, чаще всего мембрану, и мечении целевого белка с использованием соответствующих первичных и вторичных антител для его визуализации [149].

Методика

После размораживания образцы тканей мозга гомогенизировали при температуре 4°C в стеклянном гомогенизаторе с лизирующим буфером в соотношении ткань : буфер = 1 : 10 (масса/объем) в течение 5 мин. Затем инкубировали в течение 20 мин при 4°C и центрифугировали 10-20 мин при 13000–15000 об./мин при той же температуре. Цитозольная фракция (надосадочная жидкость) использовалась для определения синаптофизина, а осадок использовался для отделения ядерной фракции и определения белка CREB, phospho-CREB, синаптофизина и BDNF. Осадок растворяли в буферном растворе в соотношении 4:6 (ткань:буфер) в течение 30 мин при температуре 0°C, перемешивая каждые 10 минут. Затем образцы центрифугировались со скоростью 14000 оборотов в минуту в течение 30 минут при температуре 4°C. Надосадочная жидкость собиралась для измерения концентрации белков методом Фолина-Лоури.

Белки разделяли в 12% полиакриламидном геле и далее переносили на мембрану из поливинилденфторида электроэлюцией. Мембраны дезактивировали

5% обезжиренным молоком в TBST в течение 1 ч. Затем мембраны в течение 1,5 ч при 37°C обрабатывали первичными моноклональными мышинными антителами к синаптофизину и бета-актину в разведении 1 : 5000, к BDNF и pospho-CREB в разведении 1 : 1000, к CREB в разведении 1:500 при температуре 4°C. Избыток антител отмывали TBST с 0,5% обезжиренным молоком и инкубировали со вторичными антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена (разведение 1:500), в течение 45 минут.

Белки определяли после отмывки от вторичных антител в буфере TBST (с добавлением твин-20) с 0,5% (масса/объем) BSA в реакции с реагентами ECL с использованием системы Alliance UVITEC (Великобритания). Денситометрию полученных изображений проводили с помощью программы GIMP 2. В качестве контроля загрузки использовали бета-актин.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Сравнительное изучение миметиков BDNF и NGF на антидепрессантоподобную активность

С целью выявления антидепрессантоподобных эффектов у миметиков NGF и BDNF был использован тест вынужденного плавания. Данный поведенческий тест наиболее широко применяется в качестве скринингового [60]. Все исследования проводили на мышах-самцах линии BALB/c массой 22-24 г.

3.1.1. Исследование при однократном внутривнутрибрюшинном введении

Дизайн эксперимента

Дизайн эксперимента включал предварительную сессию плавания продолжительностью 10 мин (претест), через 1 ч после претеста – введение миметиков, препарата сравнения и физ. раствора, а еще через 23 ч – тест вынужденного плавания продолжительностью 5 мин с записью на камеру (рис. 6).



Рис. 6 Схема дизайна эксперимента по исследованию антидепрессантоподобных свойств миметиков нейротрофинов в тесте вынужденного плавания при однократном в/б введении

Миметики растворяли в физ. р-ре и вводили в/б: ГК-2 в дозах 0,5 и 1,0 мг/кг; ГК-6 в дозах 1,0, 2,0 и 5,0 мг/кг; ГСБ-106 в дозах 0,1 и 1,0 мг/кг; ГСБ-214 в дозах 0,1 и 1,0 мг/кг; ГТС-201 в дозах 0,1, 1,0 и 5,0 мг/кг. Дозы миметиков NGF были выбраны на основании проведённых ранее исследований фармакологической активности дипептидов [98, 17, 18]. ГСБ-106 вводили в дозах, в которых дипептид ранее демонстрировал антидепрессантоподобное действие в исследованиях на беспородных и линейных мышах [3, 28]. Дозы для других дипептидных миметиков BDNF были выбраны по аналогии с эффективными дозами ГСБ-106. В качестве препарата сравнения использовали амитриптилин в дозе 10,0 мг/кг в/б [35]. Группе контрольных животных в/б вводили физ. р-р.

Результаты

В серии опытов на мышах-самцах линии BALB/c у контрольных мышей, получавших физ. р-р, наблюдалась иммобильность от 204 до 229 с в зависимости от эксперимента. Амитриптилин статистически значимо снижал время иммобильности по сравнению с контрольными животными на 28%–35%, что согласуется с имеющимися литературными данными [178, 181].

Среди исследуемых дипептидных миметиков нейротрофинов время иммобильности снижал только миметик 4-й петли BDNF ГСБ-106 в дозах 0,1 мг/кг ($p = 0.0050$) и 1,0 мг/кг ($p = 0.0109$) на 23% и 20%, соответственно. Миметики других петель BDNF ГСБ-214 и ГТС-201, а также миметики NGF ГК-2 и ГК-6 не оказывали антидепрессантоподобного эффекта.

Результаты исследования представлены в таблице 3 и на рис. 7, 8.

Таблица 3 Эффекты дипептидных миметиков NGF и BDNF при их однократном в/б введении в тесте вынужденного плавания у мышей BALB/c

Группа	Доза, мг/кг в/б	Время иммобильности, с ¹	Время иммобильности, % от контрольной группы
Контроль	0	220,8±13,8	100
ГСБ-106	0,1	169,4±8,2*	76,7
	1,0	177,0±11,2*	80,2
Амитриптилин	10,0	159,2±9,8*	72,1
Контроль	0	226,1±6,7	100
ГСБ-214	0,1	223,8±8,5	98,9
ГСБ-214	1,0	230,9±7,5	102,1
Контроль	0	228,5±9,7	100
ГТС-201	0,1	241,3±11,3	105,6
ГТС-201	1,0	209,8±10,0	91,8
ГТС-201	5,0	228,1±9,3	99,8
Контроль	0	214,4±15,3	100
ГК-2	0,5	234,8±9,5	105,1
ГК-2	1,0	225,3±4,7	111,3
Контроль	0	204,1±15,9	100
ГК-6	1,0	216,8±13,1	106,2
ГК-6	2,0	176,9±18,0	86,7
ГК-6	5,0	202,6±9,5	99,3
Амитриптилин	10,0	133,2±10,4*	65,3

¹ – данные представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой среднего

* – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (однофакторный дисперсионный анализ ANOVA (тест Даннета))

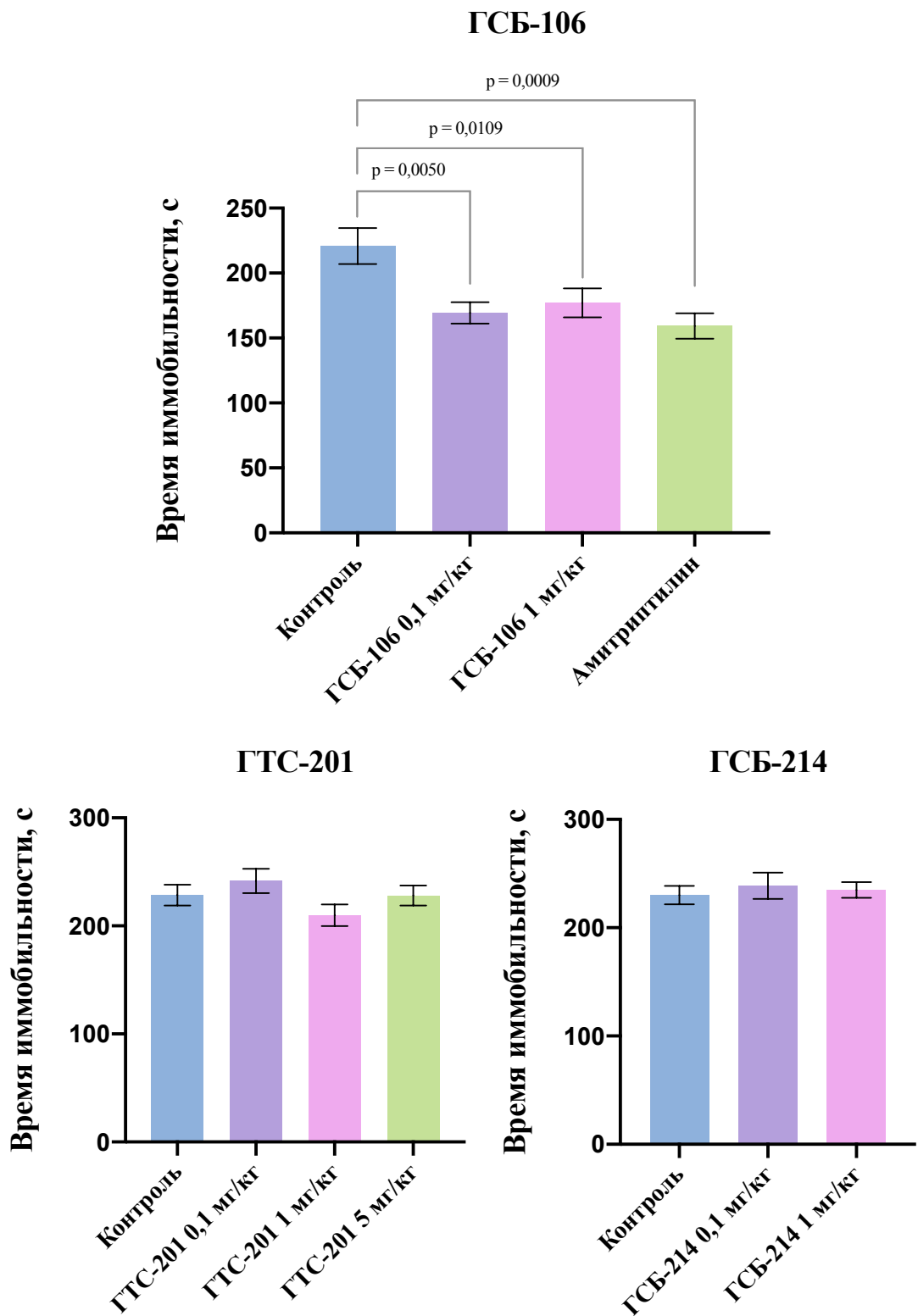


Рис. 7 Эффекты дипептидных миметиков BDNF в тесте вынужденного плавания при однократном в/б введении мышам BALB/c

Величины представляют собой средние значения со стандартной ошибкой
 Достоверность различий оценивалась с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA (тест Даннета)

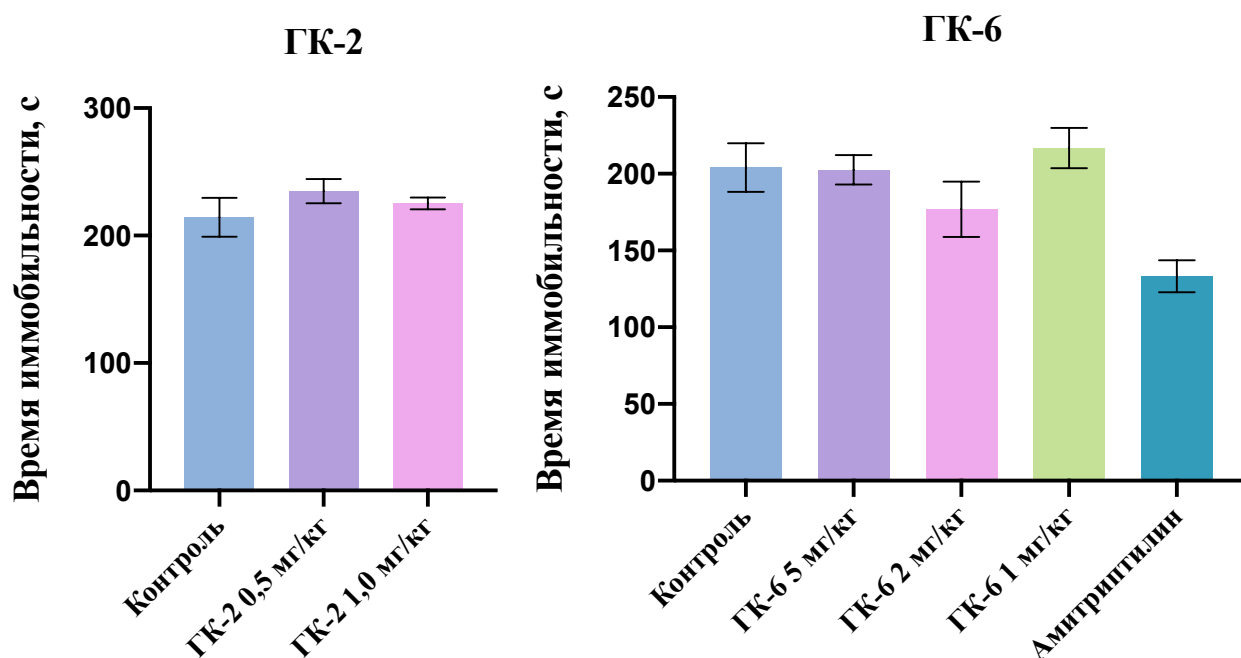


Рис. 8 Эффекты дипептидных миметиков NGF в тесте вынужденного плавания при однократном в/б введении мышам BALB/c

Величины представляют собой средние значения со стандартной ошибкой

Достоверность различий оценивалась с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA (тест Даннета)

Таким образом, установлено, что в тесте вынужденного плавания антидепрессантоподобной активностью при однократном введении обладает только миметик 4-й петли BDNF ГСБ-106 в дозах 0,1 и 1,0 мг/кг, при этом выраженность эффекта сопоставима с amitриптилином.

Полученные результаты опубликованы в работе с соавторами:

[14]

3.1.2. Исследование при субхроническом внутрибрюшинном введении

В связи с отсутствием эффектов миметиков NGF, а также миметиков 1-й и 2-й петли BDNF при однократном введении, было проведено исследование антидепрессантоподобной активности миметиков нейротрофинов при

субхроническом введении в тех же условиях. Результаты исследования активности ГСБ-106 при субхроническом введении были опубликованы в 2020 году [31].

Дизайн эксперимента

Исследование включало претест продолжительностью 10 мин и, собственно, тестирование. Миметики, амитриптилин и физ. р-р вводили в/б ежедневно в одно и то же время на протяжении 5 дней. Спустя 24 часа после завершающей инъекции проводили претест, а еще через 24 часа – собственно тест вынужденного плавания продолжительностью 5 минут с регистрацией поведения животных на видеозаписи.

В исследование были включены те миметики нейротрофинов, которые не были активны при однократном введении, в следующих дозах: 1,0 мг/кг для ГСБ-214 и ГТС-201; 0,5, 1,0 и 5,0 мг/кг для ГК-2; 2,0 мг/кг для ГК-6. Амитриптилин вводили в/б в дозе 10 мг/кг.

Схема дизайна эксперимента представлена на рис. 9.

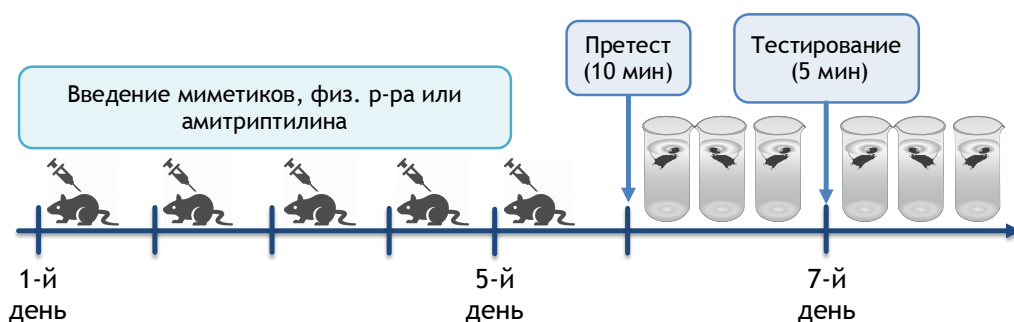


Рис. 9 Схема дизайна эксперимента по исследованию антидепрессантоподобных свойств миметиков нейротрофинов в тесте вынужденного плавания при субхроническом в/б введении

Результаты

В ходе проведенного эксперимента было установлено, что время иммобильности мышей контрольной группы составило $242,6 \pm 6,6$ с. Амитриптилин статистически значимо снижал время иммобильности на 16%.

Миметик 4-й петли NGF ГК-2 в дозе 1,0 мг/кг достоверно снижал время иммобильности по сравнению с контрольной группой на 13%. Миметик 1-й петли NGF ГК-6 также оказывал антидепрессантоподобное действие, снижая время иммобильности на 15%.

Среди исследуемых миметиков BDNF активностью обладает миметик 1-й петли BDNF ГСБ-214, достоверно снижая время иммобильности на 18% по сравнению с контрольной группой. Миметик 2-й петли BDNF ГТС-201 статистически значимого влияния на время иммобильности не оказывал.

Результаты проведенного исследования представлены в таблице 4 и рис. 10.

Таблица 4 Эффекты дипептидных миметиков NGF и BDNF при их субхроническом в/б введении в тесте вынужденного плавания у мышей BALB/c

Группа	Доза, мг/кг в/б	Время иммобильности, с ¹	Время иммобильности, % от контрольной группы
Контроль [31]	0	$205,0 \pm 9,1$	100
ГСБ-106 [31]	1,0	$172,7 \pm 11,4^{\#}$	84,2
Контроль	0	$242,6 \pm 6,6$	100
ГСБ-214	1,0	$198,4 \pm 8,1^*$	81,8
ГТС-201	1,0	$218,0 \pm 7,7$	89,9
ГК-2	0,5	$225,5 \pm 10,5$	93,0
	1,0	$210,5 \pm 4,4^*$	86,8
	5,0	$239,3 \pm 6,8$	98,6
ГК-6	2,0	$207,0 \pm 11,0^*$	85,3
Амитриптилин	10,0	$205,2 \pm 8,4^*$	84,6

¹ – данные представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой среднего

² – ранее опубликованные результаты

* – $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой (однофакторный дисперсионный анализ ANOVA (тест Даннета))

Субхроническое введение

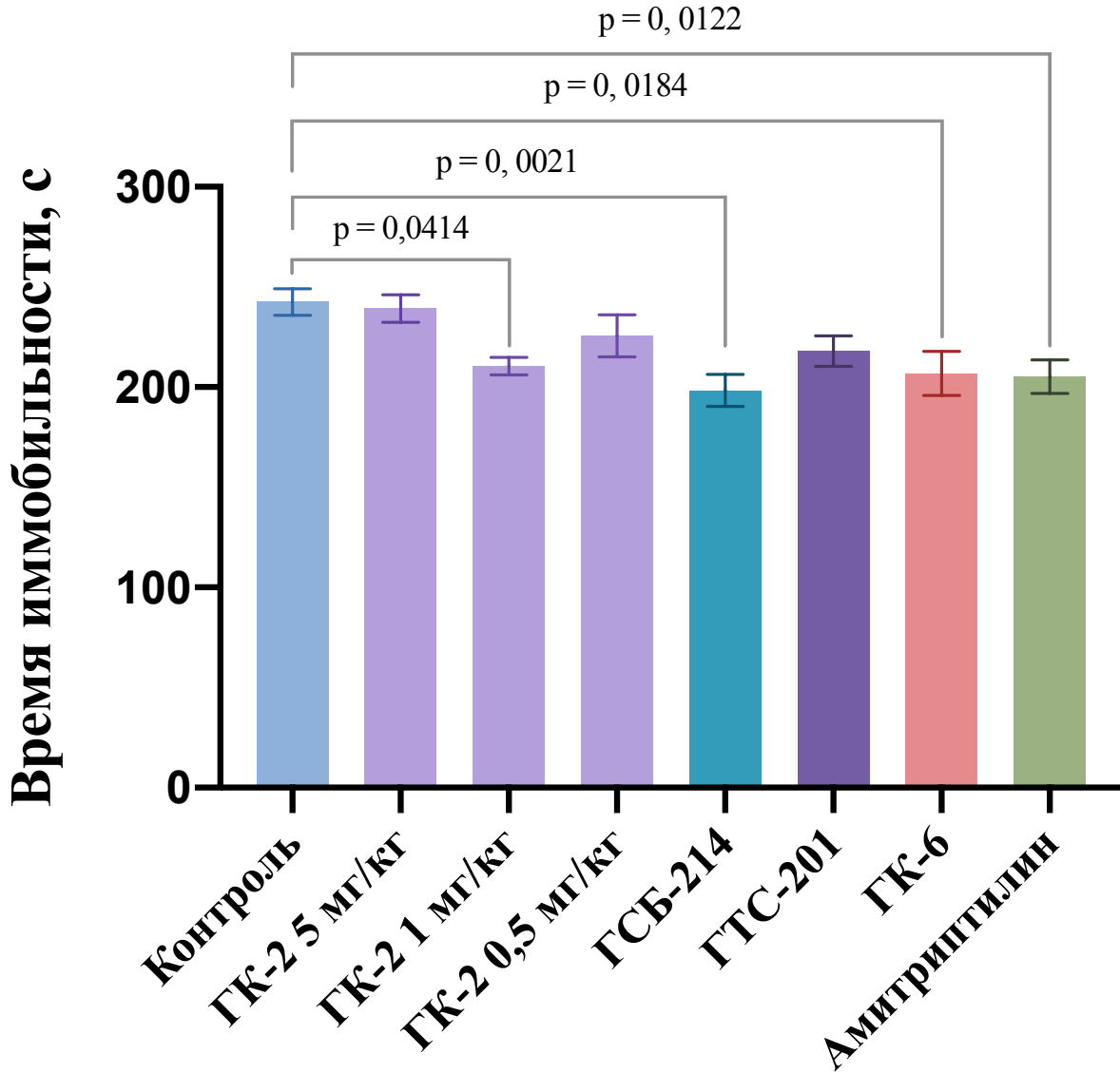


Рис. 10 Эффекты дипептидных миметиков NGF и BDNF при их субхроническом в/б введении в тесте вынужденного плавания у мышей BALB/c

Величины представляют собой средние значения со стандартной ошибкой (*mean with SEM*)
 Достоверность различий оценивалась с помощью однофакторного дисперсионного анализа ANOVA (тест Даннета)

3.1.3. Обсуждение

В проведенном сравнительном исследовании антидепрессантоподобных эффектов дипептидных миметиков NGF и BDNF в тесте вынужденного плавания при их однократном введении было установлено, что активностью обладает только миметик 4-й петли BDNF ГСБ-106, активирующий, подобно полноразмерному нейротрофину, все три основных TrkB-ассоциированных сигнальных пути – PI3K/АКТ, MAPK/ERK и PLC γ .

Полученные результаты по отсутствию активности у миметиков NGF могут быть объяснены низкой экспрессией TrkA в структурах, вовлеченных в патогенез депрессии. Так, в гиппокампе преимущественно экспрессируется TrkB, а в коре мозга TrkA практически отсутствует [233]. Это также согласуется с тем, что при однократном внутримозговом введении BDNF проявляет активность в тесте вынужденного плавания, в то время как NGF в этих условиях не активен [200]. Аналогичные результаты были получены для 7,8-дигидроксифлавона – агониста TrkB рецептора, активирующего PI3K/АКТ, PLC γ [50, 223] и MAPK [40]. Однократное в/б введение 7,8-дигидроксифлавона мышам на модели 10-дневного социального стресса оказывает антидепрессантоподобный эффект в тесте вынужденного плавания [236].

Наличие антидепрессантоподобного эффекта в ряду миметиков BDNF при однократном введении только у ГСБ-106, по-видимому, связано с его способностью к одновременной активации как PI3K/АКТ, так и MAPK/ERK каскада. Известно, что одним из компонентов PI3K/АКТ каскада является mTOR, играющий важную роль в процессах синаптогенеза и синаптической пластичности, которые, в свою очередь, способствуют быстрому устранению симптомов депрессии [196]. Одной из мишеней mTOR является эукариотический фактор инициации трансляции 4E, активация которого требует взаимодействия с MAP киназами [36]. Ингибирование MAPK/ERK приводит к устранению эффекта BDNF при его однократном введении крысам [200], а ингибирование PI3K/АКТ

предотвращает быстрые антидепрессивные эффекты кетамина [135]. Таким образом, можно предположить, что для проявления антидепрессантоподобной активности миметиков BDNF при однократном введении необходима активация как PI3K/AKT, так и MAPK/ERK сигнальных путей.

Проявление активности миметиков NGF при субхроническом введении, по-видимому, объясняется их способностью, подобно нативному нейротрофину, стимулировать синтез BDNF в мозге [214] и согласуется с литературными данными о наличии антидепрессантоподобного эффекта самого NGF при субхроническом, но не остром введении: 14-дневное подкожное введение NGF крысам линии Flinders Sensitive (генетическая модель депрессии на животных) способствует статистически значимому увеличению времени активного плавания в тесте вынужденного плавания [171]. Антидепрессантоподобные эффекты у миметика 1-й петли BDNF ГСБ-214 объясняются вкладом активации PI3K/AKT в гиппокампальный нейрогенез за счет увеличения выживаемости постоянно образующихся там нейробластов [118]. Об этом свидетельствует тот факт, что миметик BDNF ГТС-201, не активирующий PI3K/AKT, активность не проявляет.

В связи с тем, что ГСБ-106 проявляет антидепрессантоподобную активность уже при однократном введении, он был выбран в качестве соединения-лидера.

Данные по антидепрессантоподобной активности дипептидных миметиков NGF и BDNF суммированы в таблице 5.

Таблица 5 Антидепрессантоподобная активность дипептидных миметиков отдельных петель NGF и BDNF в тесте вынужденного плавания у мышей

Миметик	Петля нейротрофина	Активируемые пострецепторные сигнальные пути	Активность при <u>однократном</u> введении	Активность при <u>субхроническом</u> введении
Миметики BDNF				
ГСБ-106	4-я	PI3K/АКТ, МАРК/ERK, PLC γ	+	+
ГСБ-214	1-я	PI3K/АКТ, PLC γ	0	+
ГТС-201	2-я	МАРК/ERK, PLC γ	0	0
Миметики NGF				
ГК-2	4-я	PI3K/АКТ, PLC γ	0	+
ГК-6	1-я	PI3K/АКТ, МАРК/ERK, PLC γ	0	+

3.2. Изучение антидепрессантоподобного действия ГСБ-106 на модели депрессивноподобного состояния, вызванного социальным стрессом

3.2.1. Исследование антидепрессантоподобного действия ГСБ-106 и его влияния на синаптогенез в гиппокампе на модели 10-дневного социального стресса при однократном пероральном введении

Дизайн эксперимента

Исследование выполнено на мышах-самцах C57BL/6. В качестве агрессоров использовали беспородных мышей-самцов. После 10-дневного стрессирования, на 11-й день, проводили тест на двигательную активность, на основании которого проводили отбор мышей со сформированным депрессивноподобным состоянием. Этим мышам случайным образом делили на 3 группы по 8 животных в каждой: стрессированные контрольные животные, получавшие перорально (п/о) 1% раствор крахмала (группа «контроль + стресс»); стрессированные животные, получавшие п/о ГСБ-106 в дозе 0,1 мг/кг (группа «ГСБ-106 + стресс») и стрессированные животные, получавшие п/о amitriptyline в дозе 10,0 мг/кг (группа «амитриптилин + стресс») в 1% растворе крахмала.

После теста на двигательную активность мышам рассаживали в индивидуальные клетки и на 12-й день эксперимента вводили п/о соответствующие вещества. Одновременно с началом моделирования социального стресса было сформировано еще 3 группы по 8 мышам, не подвергавшихся стрессу, которым на 12-й день однократно п/о вводили 1% раствор крахмала (группа «контроль без стресса»), ГСБ-106 в дозе 0.1 мг/кг (группа «ГСБ-106 без стресса») или amitriptyline (группа «амитриптилин без стресса») в 1% растворе крахмала.

На 13-й день эксперимента проводили тест предпочтения сахарозы для оценки ангедонии у грызунов, а на 14-й день мышей декапитировали. Выделяли гиппокамп с целью оценки интенсивности синаптогенеза методом вестерн-блот анализа, для чего определяли содержание маркера пресинаптических окончаний – синаптофизина.

Схема дизайна эксперимента представлена на рис. 11.

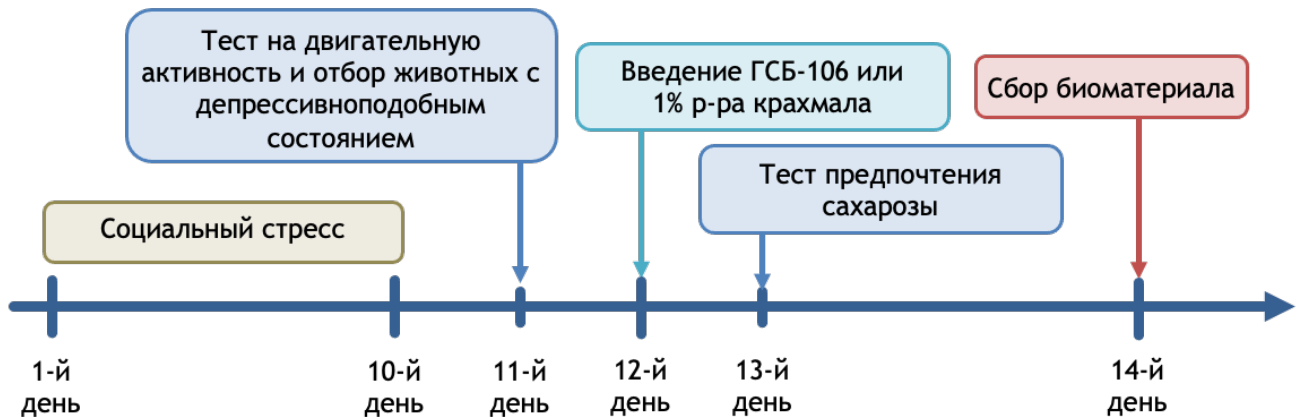


Рис. 11 Схема дизайна эксперимента по исследованию антидепрессантоподобных свойств ГСБ-106 на модели 10-дневного социального стресса при однократном в/б введении

Результаты

В тесте на двигательную активность было установлено, что за 10 дней социального стресса у «жертв» развивается статистически значимый дефицит двигательной активности по сравнению с нестрессированным контролем, что свидетельствует о сформированном депрессивноподобном состоянии.

В тесте предпочтения раствора сахарозы наблюдалось следующее: у жертв, получавших 1% раствор крахмала, потребление раствора сахарозы было статистически значимо снижено по сравнению с нестрессированным контролем, что свидетельствует о формировании ангедонии. Введение стрессированным мышам ГСБ-106 или амитриптилина восстанавливало предпочтение сахарозы до уровня, сопоставимого с нестрессированным контролем (таблица 6).

Таблица 6 Предпочтение 1% раствора сахарозы у мышей, подвергнутых 10-дневному социальному стрессу через 24 ч после однократного п/о введения ГСБ-106 или amitриптилина

№ п/п	Группа (n = 8)	Предпочтение 1% раствора сахарозы, %
1.	«контроль без стресса»	80,7 ± 3,2
2.	«ГСБ-106 без стресса»	82,4 ± 2,8
3.	«амитриптилин без стресса»	74,3 ± 6,5
4.	«контроль + стресс»	75,9 ± 2,4*
5.	«ГСБ-106 + стресс»	81,9 ± 3,1#
6.	«амитриптилин + стресс»	84,8 ± 3,6#

* – $p < 0,05$ по сравнению с группой «контроль без стресса» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Fisher LSD)

– $p < 0,05$ по сравнению с группой «контроль + стресс» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Fisher LSD)

Вестерн-блот анализ показал, что ГСБ-106 вызывает статистически значимое увеличение содержания синаптофизина в гиппокампе контрольных животных. Под влиянием стресса у мышей наблюдается статистически значимое снижение синаптофизина на 30%. На фоне введения стрессированным мышам ГСБ-106 и amitриптилина наблюдается выраженная тенденция к восстановлению уровня синаптофизина до значений интактного контроля ($p = 0,08$). Результаты вестерн-блоттинга представлены на рис. 12.

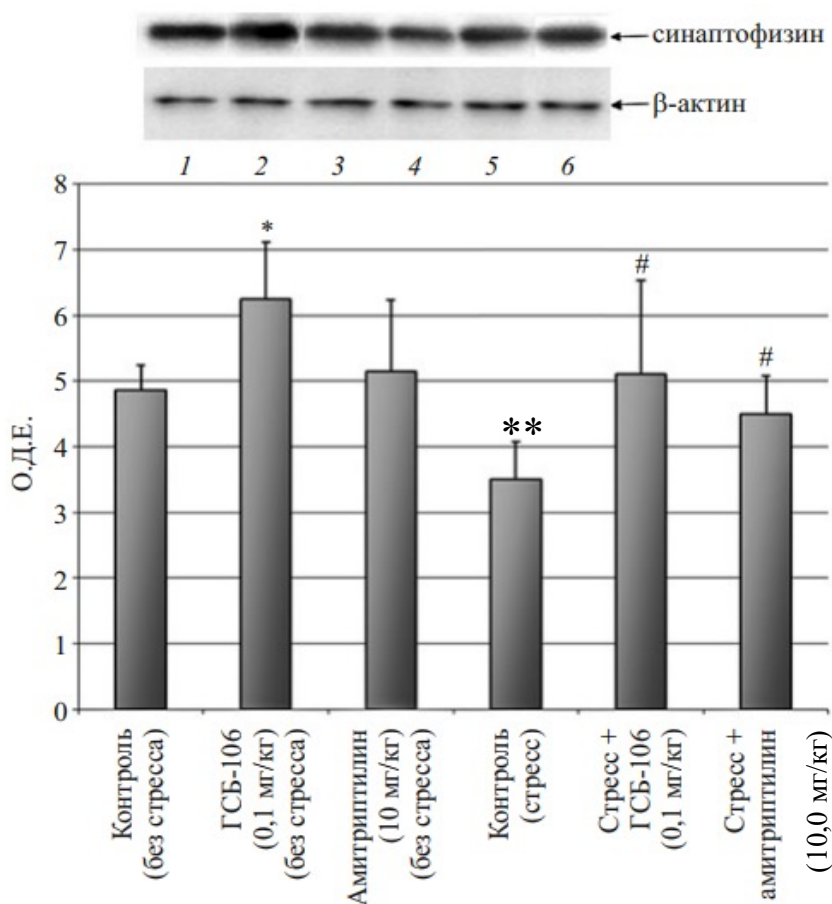


Рис. 12 Содержание синаптофизина в гиппокампе мышей на 4 сутки после введения ГСБ-106 или амитриптилина (данные вестерн-блот анализа)

Данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.

Дорожки: 1 – «контроль без стресса», 2 – «ГСБ-106 без стресса», 3 – «амитриптилин без стресса», 4 – «контроль - стресс», 5 – «стресс + ГСБ-106», 6 – «стресс + амитриптилин».

О. Д. Е. – относительные денситометрические единицы.

* – $p < 0,05$ по сравнению с группой «контроль без стресса» (U-критерий Манна-Уитни);

** – $p < 0,01$ по сравнению с группой «контроль без стресса» (U-критерий Манна-Уитни);

– $p = 0,08$ по сравнению с группой «контроль - стресс» (U-критерий Манна-Уитни)

Таким образом, ГСБ-106 устранял проявления ангедонии у мышей со сформированным депрессивноподобным состоянием, вызванным 10-дневным социальным стрессом, а также имел тенденцию к восстановлению у них пониженного уровня синаптофизина в гиппокампе.

Полученные результаты опубликованы в работах с соавторами:
[179, 22]

3.2.2. Исследование антидепрессантоподобного действия ГСБ-106 на модели 28-дневного социального стресса при однократном пероральном введении

Дизайн эксперимента

В исследовании использованы мыши-самцы C57BL/6 как в качестве жертв, так и в качестве агрессоров. Процедуру социального стресса повторяли ежедневно на протяжении 28 дней. На 29-й день проводили тест на двигательную активность, на основании которого проводили отбор мышей со сформированным депрессивноподобным поведением. Этим мышам случайным образом делили на 2 группы по 9 животных в каждой: стрессированные контрольные животные, получавшие перорально (п/о) 1% раствор крахмала (группа «контроль + стресс»), и стрессированные животные, получавшие п/о ГСБ-106 в дозе 0,1 мг/кг (группа «ГСБ-106 + стресс»).

После теста на двигательную активность мышам рассаживали в индивидуальные клетки и на 30-й день эксперимента вводили п/о соответствующие вещества. Одновременно с началом моделирования социального стресса было сформировано еще 2 группы по 10 мышам, не подвергавшихся стрессу, которым на 30-й день однократно п/о вводили 1% раствор крахмала (группа «контроль без стресса») или ГСБ-106 в дозе 0.1 мг/кг (группа «ГСБ-106 без стресса») в 1% растворе крахмала. Через день после введения повторно проводили тест на двигательную активность, чтобы оценить эффект миметика, а еще через день проводили тест предпочтения раствору сахарозы.

Схема дизайна эксперимента представлена на рис. 13.

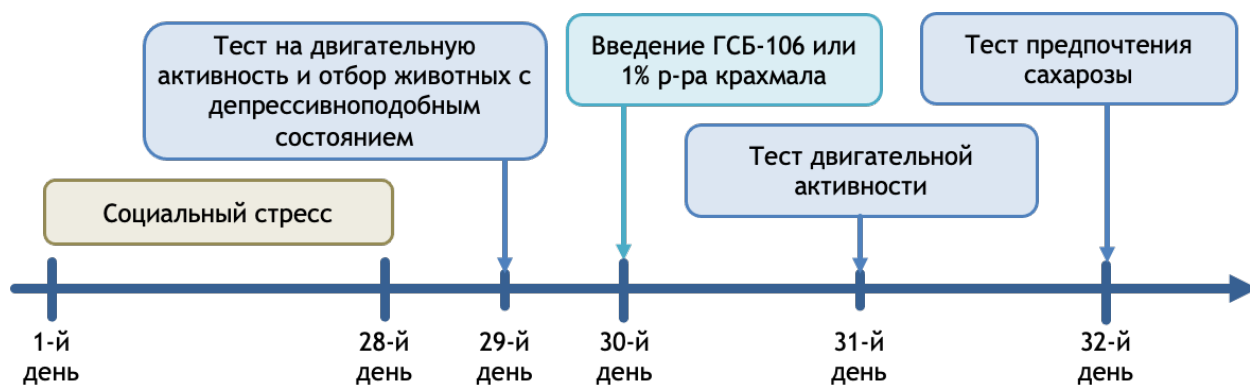


Рис. 13 Схема дизайна эксперимента по исследованию антидепрессантоподобных свойств ГСБ-106 на модели 28-дневного социального стресса при однократном в/б введении

Результаты

Тест на двигательную активность после 28-дневного социального стресса показал, что у стрессированных мышей наблюдается выраженный дефицит локомоторной активности по сравнению с интактным контролем, что свидетельствует о сформированном депрессивноподобном состоянии.

Повторный тест на двигательную активность после введения ГСБ-106 показал, что однократное введение миметика не восстанавливает сниженную под влиянием стресса локомоторную активность (таблица 7).

Таблица 7 Влияние однократного введения ГСБ-106 на двигательную активность мышей, подвергнутых 28-дневному социальному стрессу

№ п/п	Группа	n	Двигательная активность в инфракрасном актиметре, у.е. ¹
1.	«контроль без стресса»	10	603,7 ± 60,0
2.	«ГСБ-106 без стресса»	10	652,6 ± 58,7
3.	«контроль + стресс»	9	416,0 ± 46,7*
4.	«ГСБ-106 + стресс»	9	460,2 ± 36,9*

¹ - данные представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой среднего

* – p < 0,05 по сравнению с группой «контроль без стресса» (U-тест Манна-Уитни)

В тесте предпочтения раствора сахарозы установлено снижение потребления сладкого раствора у группы стрессированного контроля по сравнению с интактным. Однократное введение ГСБ-106 не оказывало статистически значимого влияния на сниженное предпочтение раствора сахарозы (таблица 8).

Таблица 8 Влияние однократного введения ГСБ-106 на предпочтение раствора сахарозы у мышей, подвергнутых 28-дневному социальному стрессу

№ п/п	Группа	n	Предпочтение 1% раствора сахарозы, %
1.	«контроль без стресса»	10	87,1 ± 4,1
2.	«ГСБ-106 без стресса»	10	74,0 ± 3,9
3.	«контроль + стресс»	9	71,5 ± 3,5*
4.	«ГСБ-106 + стресс»	9	79,8 ± 3,3

* – p < 0,05 по сравнению с группой «контроль без стресса» (U-тест Манна-Уитни)

Таким образом, установлено, что при однократном введении ГСБ-106 не устраняются дефицит локомоторной активности и проявления ангедонии при депрессивноподобном состоянии у мышей, вызванном 28-дневным социальным стрессом.

3.2.3. Исследование антидепрессантоподобного действия ГСБ-106 и его влияния на синаптогенез и нейрогенез в гиппокампе на модели 28-дневного социального стресса при хроническом пероральном введении

В связи с отсутствием эффекта ГСБ-106 при однократном введении на модели социального стресса, было проведено исследование с хроническим режимом введения при тех же условиях, а также выполнено биохимическое исследование с определением уровней маркеров синаптогенеза и нейрогенеза.

Дизайн эксперимента

В исследовании были использованы мыши самцы C57BL/6 как в качестве жертв, так и в качестве агрессоров. Процедуру социального стресса повторяли ежедневно на протяжении 28 дней. На 29-й день проводили тест на двигательную активность, на основании которого проводили отбор мышей со сформированным депрессивноподобным поведением. Этим мышам случайным образом делили на 2 группы по 8 животных в каждой: стрессированные контрольные животные, получавшие п/о 1% раствор крахмала (группа «контроль + стресс»), и стрессированные животные, получавшие п/о ГСБ-106 в дозе 0,1 мг/кг (группа «ГСБ-106 + стресс») в растворе крахмала.

После теста на двигательную активность мышам рассаживали в индивидуальные клетки и на 30-й день эксперимента начинали ежедневное хроническое введение веществ на протяжении 21 дня. Одновременно с началом моделирования социального стресса было сформировано еще 2 группы по 10 мышам, не подвергавшихся стрессу, которым на 30-й день начинали п/о вводить 1% раствор крахмала (группа «контроль без стресса») или ГСБ-106 в дозе 0,1 мг/кг (группа «ГСБ-106 без стресса») в 1% растворе крахмала. Спустя 24 ч после последнего введения веществ повторно проводили тест на двигательную

активность, чтобы оценить эффект миметика, а еще через 24 ч проводили тест предпочтения раствора сахарозы. На 6-й день после окончания поведенческих тестов мышей декапитировали, извлекая гиппокамп с целью определения уровней синаптофизина, BDNF, CREB и pCREB.

Схема дизайна эксперимента представлена на рис. 14.

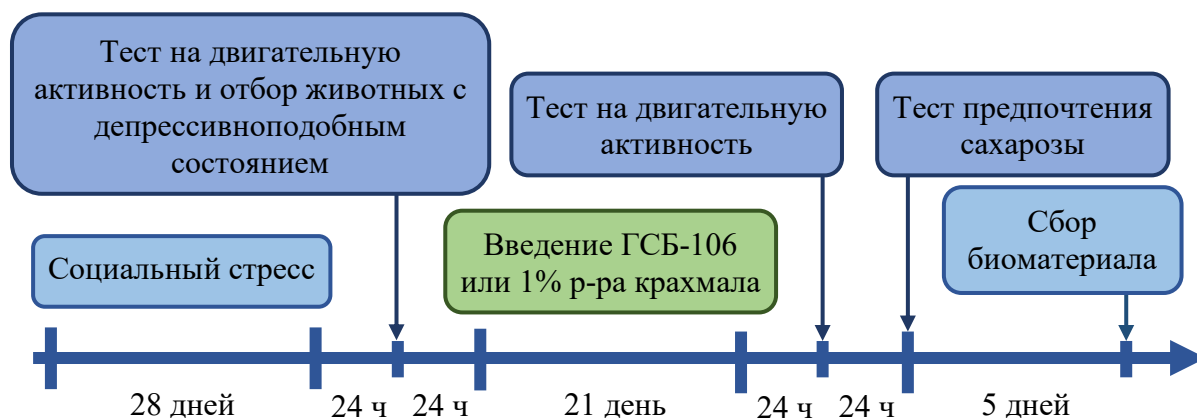


Рис. 14 Схема дизайна эксперимента по исследованию антидепрессантоподобных свойств ГСБ-106 на модели 28-дневного социального стресса при хроническом в/б введении

Результаты

В ходе исследования было установлено, что двигательная активность у мышей, подвергнутых 28-дневному социальному стрессу, статистически значимо снижена по сравнению с интактным контролем (таблица 9). Через 22 дня после окончания стресса у животных, которым вводился физ. р-р, сохранялось снижение двигательной активности, а также проявлялась ангедония в тесте предпочтения сахарозы. Хроническое введение ГСБ-106 достоверно устраняло дефицит двигательной активности и восстанавливало потребление сладкого раствора (таблица 10).

Таблица 9 Влияние 28-дневного социального стресса на двигательную активность

№ п/п	Группа	n	Двигательная активность в инфракрасном актиметре, у.е. ¹
1.	«контроль без стресса»	20	620,0 ± 24,4
2.	«контроль + стресс»	16	440,8 ± 24,9*

¹ – данные представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой среднего

* – p < 0,01 по сравнению с группой «контроль без стресса» (t-критерий Стьюдента)

Таблица 10 Влияние 28-дневного социального стресса и 21-дневного введения ГСБ-106 на двигательную активность и предпочтение сахарозы

№ п/п	Группа	n	Двигательная активность в инфракрасном актиметре, у.е. ¹	Предпочтение 1% раствора сахарозы, %
3.	«контроль без стресса»	10	493,8 ± 39,7	67,3 ± 3,6
4.	«ГСБ-106 без стресса»	10	471,2 ± 35,5	61,3 ± 3,4
5.	«контроль + стресс»	8	358,6 ± 32,5[#]	53,7 ± 3,9*
6.	«ГСБ-106 + стресс»	8	438,8 ± 31,2^{##}	69,7 ± 3,6^{**}

¹ – данные представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой среднего

[#] – p < 0,05 по сравнению с группой «контроль без стресса» (U-тест Манна-Уитни)

^{##} – p < 0,05 по сравнению с группой «контроль + стресс» (U-тест Манна-Уитни)

* – p < 0,05 по сравнению с группой «контроль без стресса» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, Fisher LSD test)

** – p < 0,05 по сравнению с группой «контроль + стресс» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, Fisher LSD test)

В результате проведенного вестерн-блот анализа установлено, что под влиянием 28-дневного социального стресса статистически значимо снижаются уровни синаптофизина, BDNF, CREB и pCREB, а хроническое введение ГСБ-106 достоверно восстанавливает уровни данных белков в гиппокампе (рис. 15, таблица 11).

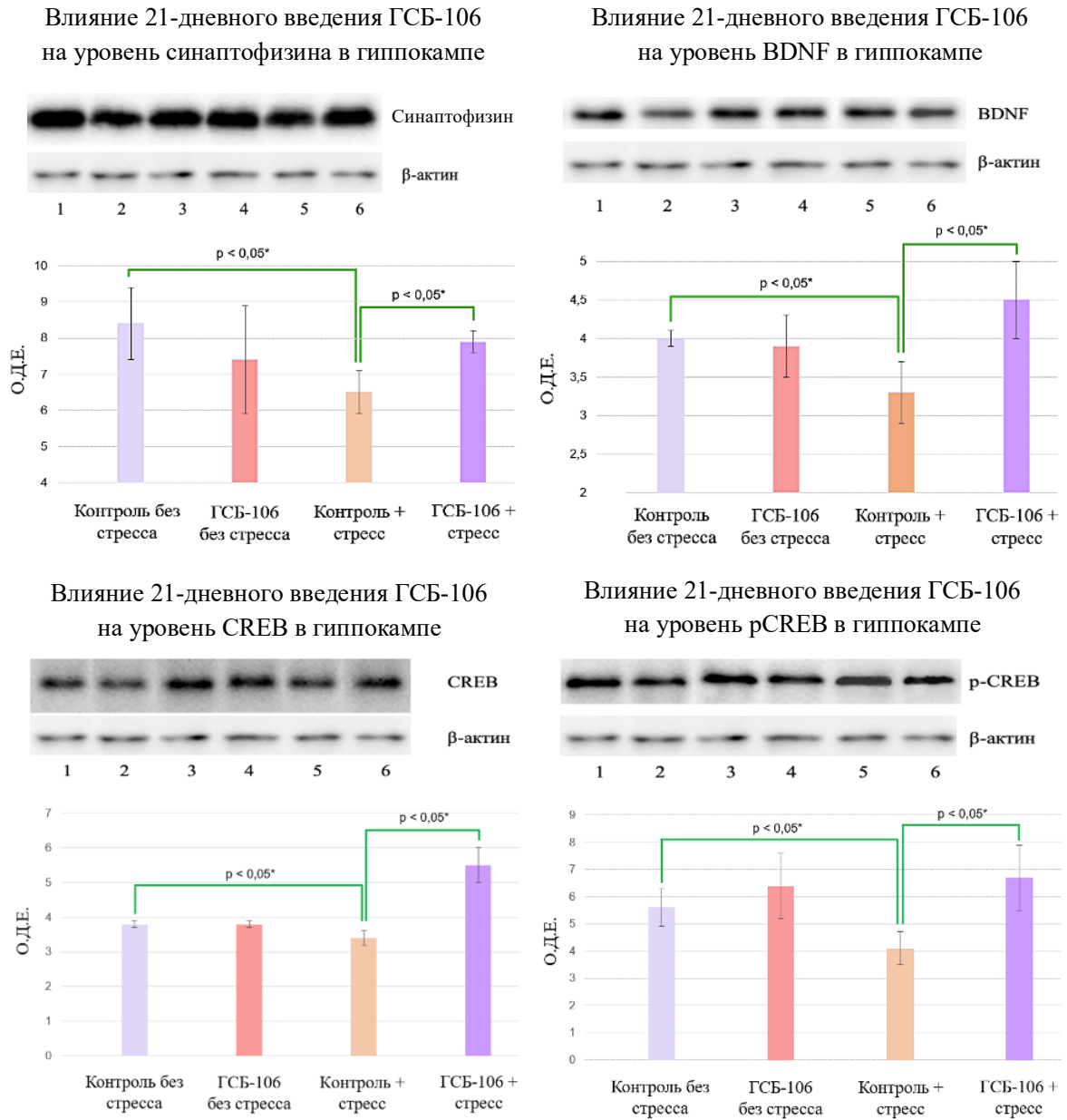


Рис. 15 ГСБ-106 полностью восстанавливает сниженные уровни синаптофизина, BDNF, CREB и pCREB в гиппокампе мышей, подвергнутых 28-дневному социальному стрессу (данные вестерн-блот анализа)

Данные представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой среднего

О. Д. Е. – относительные денситометрические единицы.

* – статистическая значимость различий (U-тест Манна-Уитни)

Таблица 11 Влияние 28-дневного социального стресса и 21-дневного введения ГСБ-106 на уровни синаптофизина, BDNF, CREB и pCREB в гиппокампе мышей

№ п/п	Группа	Уровни детектируемых белков, О.Д.Е. ¹			
		Синаптофизин	BDNF	CREB	pCREB
1.	«контроль без стресса»	8,1 ± 1,0	4,0 ± 0,1	3,8 ± 0,1	5,6 ± 0,7
2.	«ГСБ-106 без стресса»	7,4 ± 1,5	3,9 ± 0,4	3,8 ± 0,1	6,4 ± 1,2
3.	«контроль + стресс»	6,5 ± 0,6*	3,5 ± 0,4*	3,4 ± 0,2*	4,1 ± 0,6*
4.	«ГСБ-106 + стресс»	7,9 ± 0,3[#]	4,5 ± 0,5[#]	5,5 ± 0,5[#]	6,7 ± 1,2[#]

¹ - данные представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой среднего

* – p < 0,05 по сравнению с группой «контроль без стресса» (U-тест Манна-Уитни)

[#] – p < 0,05 по сравнению с группой «контроль + стресс» (U-тест Манна-Уитни)

Таким образом, для ГСБ-106 установлена способность устранять вызванные 28-дневным социальным стрессом проявления дефицита двигательной активности и ангедонии, а также восстанавливать сниженные уровни маркеров синапто- и нейрогенеза: синаптофизина, BDNF, CREB и pCREB.

Полученные результаты опубликованы в работе с соавторами: [101].

3.2.4. Обсуждение

Модель депрессивноподобного состояния, вызванного социальным стрессом различной продолжительности, основана на развитии поведенческих и физиологических, а также нейрохимических изменений под действием повторяющегося опыта социальных поражений [126]. По-видимому, от продолжительности социального стресса зависит глубина формируемой патологии. Так, хронический (35 дней) социальный стресс приводил к увеличению времени иммобильности в тесте вынужденного плавания по сравнению с нестрессированным контролем [110], а после субхронического (10 дней) стресса не было выявлено статистически значимых различий во времени иммобильности в тестах вынужденного плавания и подвешивания за хвост между стрессированными

и контрольными животными [97]. В то же время мыши под влиянием 10-дневного стресса демонстрировали выраженное избегание в тесте социального взаимодействия и тенденцию к проявлению тревожности в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» [97].

В серии экспериментов на модели депрессивноподобного состояния, вызванного социальным стрессом различной продолжительности, установлено, что антидепрессантоподобное действие ГСБ-106, выражающееся в способности устранять проявления ангедонии и дефицит двигательной активности, проявляется при однократном введении в случае 10-дневного стресса и не проявляется при однократном введении в случае 28-дневного стресса. По-видимому, 28-дневный социальный стресс формирует устойчивое депрессивноподобное состояние, для устранения которого однократного введения ГСБ-106 недостаточно. Полученный результат согласуется с литературными данными, согласно которым антидепрессанты не проявляют эффекта на модели хронического социального стресса при однократном введении, но активны при хроническом введении [222]. Кроме того, эффект ГСБ-106 может реализовываться по аналогии с полноразмерным нейротрофином за счет влияния на процессы нейрогенеза, для полного разворачивания которых требуется не менее трех недель [8].

Биохимическое изучение гиппокампа показало, что у мышей, подвергнутых 10- и 28-дневному социальному стрессу наблюдается снижение уровня синаптофизина – белка пресинаптических везикул, регулирующего их эндоцитоз [127]. Показано, что плотность синапсов в гиппокампе и ПФК, зависящая от уровня синаптофизина [89], находится в обратно направленной связи с выраженностью проявлений депрессивных расстройств [106]. Также под влиянием 28-дневного стресса у мышей снижался уровень CREB (и его фосфорилированной формы pCREB) – белка, регулирующего транскрипцию генов, играющих важную роль в обеспечении синапто- и нейрогенеза, пластичности мозга, процессов обучения и памяти [51, 188, 234]. При этом известно, что уровень CREB в гиппокампе и коре снижается при депрессии и восстанавливается после терапии антидепрессантами [55, 161]. Под влиянием хронического стресса у мышей

снижался также уровень BDNF в гиппокампе, что согласуется с литературными данными о сниженном уровне BDNF при депрессии у людей [38] и на модели депрессивноподобного состояния, вызванного хроническим стрессом, у крыс [117].

ГСБ-106 при хроническом 21-дневном введении восстанавливал сниженные под влиянием 28-дневного социального стресса уровни синаптофизина, CREB, pCREB и BDNF, что свидетельствует в пользу наличия у миметика антидепрессивных свойств.

3.3. Изучение антидепрессантоподобного эффекта ГСБ-106 при однократном пероральном введении на модели депрессивноподобного состояния, вызванного индуктором воспаления – липополисахаридом

Дизайн эксперимента

Исследование выполнено на мышах-самцах C57BL/6 массой 18–20 г. ЛПС вводили в/б в дозе 0,5 мг/кг, а через 23 ч после введения формировали экспериментальные группы по 8-9 животных, которым однократно п/о вводили ГСБ-106 в дозах 0,5, 1,0 и 5,0 мг/кг. Контрольной группе сперва в/б вводили физ. р-р, а затем – п/о 1% раствор крахмала. Еще через 2 ч проводили тест предпочтения 1% раствору сахарозы с целью установления проявлений ангедонии у мышей. На следующий день оценивали уровень потребления воды и сладкого раствора.

Схема дизайна эксперимента представлена на рис. 16.



Рис. 16 Схема дизайна эксперимента по изучению антидепрессантоподобных свойств ГСБ-106 на модели ЛПС-индуцированного депрессивноподобного состояния при однократном в/б введении

Результаты

Однократное в/б введение ЛПС вызывало у мышей снижение потребления 1% раствора сахарозы на 43,4% по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$), что свидетельствует о развитии ЛПС-индуцированной ангедонии.

ГСБ-106 в дозе 0,5 мг/кг увеличивал потребление сладкого раствора, сниженное на фоне введения ЛПС, на 38,8% по сравнению с группой, которой вводили только ЛПС. В дозах 1,0 и 5,0 мг/кг миметик не оказывал влияния на предпочтение сахарозы (таблица 12).

Таблица 12 Влияние однократного введения липополисахарида и ГСБ-106 на предпочтение сахарозы

№ п/п	Группы	n	Вещества и способ их введения	Предпочтение 1% раствора сахарозы, %
1.	Контроль	8	физ. р-р в/б; 1% крахмал п/о	88,7 ± 5,6
2.	ЛПС	8	ЛПС 0,5 мг/кг в/б; 1% крахмал п/о	50,2 ± 7,5*
3.	ЛПС + ГСБ-106 0,5	8	ЛПС 0,5 мг/кг в/б; ГСБ-106 0,5 мг/кг п/о	69,7 ± 3,2#
4.	ЛПС + ГСБ-106 1,0	9	ЛПС 0,5 мг/кг в/б; ГСБ-106 1,0 мг/кг п/о	56,1 ± 6,5
5.	ЛПС + ГСБ-106 5,0	9	ЛПС 0,5 мг/кг в/б; ГСБ-106 5,0 мг/кг п/о	56,2 ± 4,5

* – $p \leq 0,01$ по сравнению с группой «контроль» (t -критерий Стьюдента),

– $p \leq 0,05$ по сравнению с группой «ЛПС» (t -критерий Стьюдента)

Полученные результаты опубликованы в работе с соавторами:

[32]

Обсуждение

Развитие ангедонии рассматривают в качестве ключевого симптома депрессии как в международной классификации болезней 10-го пересмотра, так и в классификации психических расстройств Американской психиатрической ассоциации (DSM-IV) [70, 230].

В настоящем исследовании на фоне введения ЛПС у мышей формировалось депрессивноподобное состояние, при котором наблюдается снижение предпочтения раствору сахарозы, что свидетельствует о развитии ангедонии и соответствует литературным данным [73, 235].

Однократное п/о введение ГСБ-106 в дозе 0,5 мг/кг способствует устранению ЛПС-индуцированной ангедонии у мышей, увеличивая предпочтение сахарозы более, чем на треть.

Таким образом, антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 подтвердилось на двух принципиально разных моделях депрессивноподобного состояния: вызванного социальным стрессом и индуктором воспаления – ЛПС.

3.4. Изучение возможных механизмов антидепрессантоподобного действия ГСБ-106 с использованием метода фармакологического ингибиторного анализа

Предполагаемый механизм действия дипептидных миметиков нейротрофинов базируется на активации TrkA или TrkB рецептора и трех основных ассоциированных с ним пострецепторных сигнальных каскада: PI3K/AKT, MAPK/ERK и PLC γ .

С целью установления зависимости антидепрессантоподобного эффекта соединения-лидера ГСБ-106 от активации TrkB и его сигнальных путей был проведен ряд экспериментов с использованием теста вынужденного плавания на мышах BALB/c, в которых ГСБ-106 вводили на фоне избирательной блокады или ингибирования целевых молекулярных мишеней. Используемые блокаторы разводили в 5% р-ре диметилсульфоксида и вводили в/б. Субстанцию ГСБ-106 растворяли в физ. р-ре и также вводили в/б. В качестве препарата сравнения использовали amitriptilin в дозе 10,0 мг/кг в/б.

3.4.1. Роль активации TrkB в антидепрессантоподобном действии ГСБ-106

Дизайн эксперимента

Тест вынужденного плавания с избирательным блокатором TrkB – соединением K252A – проводили в течение 5 мин. Предварительно, за 24 ч до теста, проводили претест (10 минут), через 30 мин после которого однократно вводили K252A в дозе 25,0 мкг/кг или 5% раствор ДМСО, а еще через 30 мин однократно вводили ГСБ-106, amitriptilin или физ. р-р. Интервалы между введением K252A

и ГСБ-106, а также проведением теста вынужденного плавания были выбраны в соответствии с результатами ранее проведенных экспериментов.

Схема дизайна эксперимента представлена на рис. 17.

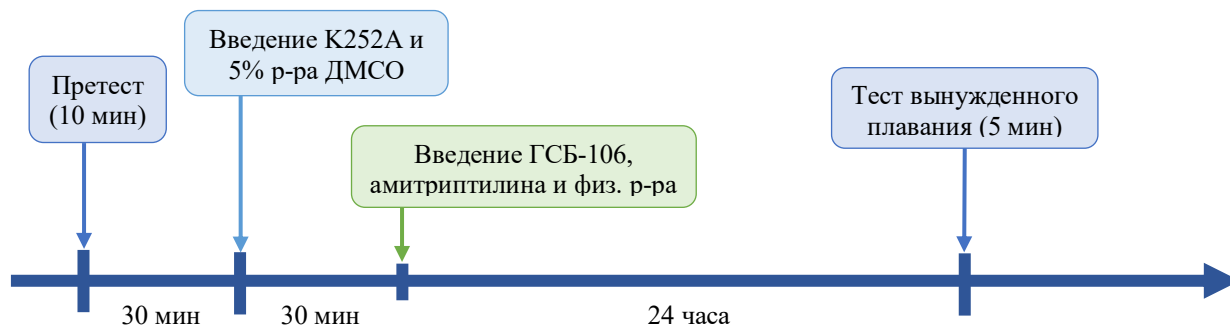


Рис. 17 Схема дизайна эксперимента по изучению вклада ТtkВ в антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 и amitриптилина в тесте вынужденного плавания при однократном в/б введении

Результаты

Показано, что ГСБ-106 и amitриптилин достоверно снижали время иммобильности мышей по сравнению с контрольной группой на 33% и 42%, соответственно. К252А не влиял на время иммобильности мышей, при этом устранял антидепрессантоподобный эффект ГСБ-106 и amitриптилина: на фоне введения блокатора устраняются статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой (таблица 13, рис. 18).

Полученные результаты опубликованы в работе с соавторами:

[101]

Таблица 13 Влияние блокатора TrkB K252A на антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 и amitриптилина в тесте вынужденного плавания

№ п/п	Группа	Вводимые препараты и доза в/б введения, мг/кг	n	Время иммобильности, с ¹	Время иммобильности, % от контрольной группы
1.	«контроль»	1% р-р ДМСО Через 30 мин – физ. р-р	10	235,7 ± 4,6	–
2.	«K252A»	K252A (25 мкг/кг в 1% ДМСО) Через 30 мин – физ. р-р	10	227,4 ± 5,1	96,5
3.	«ГСБ-106»	1% р-р ДМСО Через 30 мин – ГСБ-106 (0,1 мг/кг в физ. р-ре)	10	159,1 ± 6,2^{*, ^}	67,5
4.	«ГСБ-106 + K252A»	K252A (25 мкг/кг в 1% ДМСО) Через 30 мин – ГСБ-106 (0,1 мг/кг в физ. р-ре)	10	251,1 ± 3,5[#]	106,5
5.	«амитриптилин»	1% р-р ДМСО Через 30 мин – amitриптилин (10 мг/кг в физ. р-ре)	10	136,8 ± 5,8[*]	58,0
6.	«амитриптилин + K252A»	K252A (25 мкг/кг в 1% ДМСО) Через 30 мин – amitриптилин (10 мг/кг в физ. р-ре)	10	222,8 ± 1,9^{##}	94,5

¹ – данные представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой среднего

* – $p < 0,0001$ по сравнению с группой «контроль» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Тьюки)

[^] – $p = 0,0179$ по сравнению с группой «амитриптилин» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Тьюки)

[#] – $p < 0,0001$ по сравнению с группой «ГСБ-106» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Тьюки)

^{##} – $p < 0,0001$ по сравнению с группой «амитриптилин» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Тьюки)

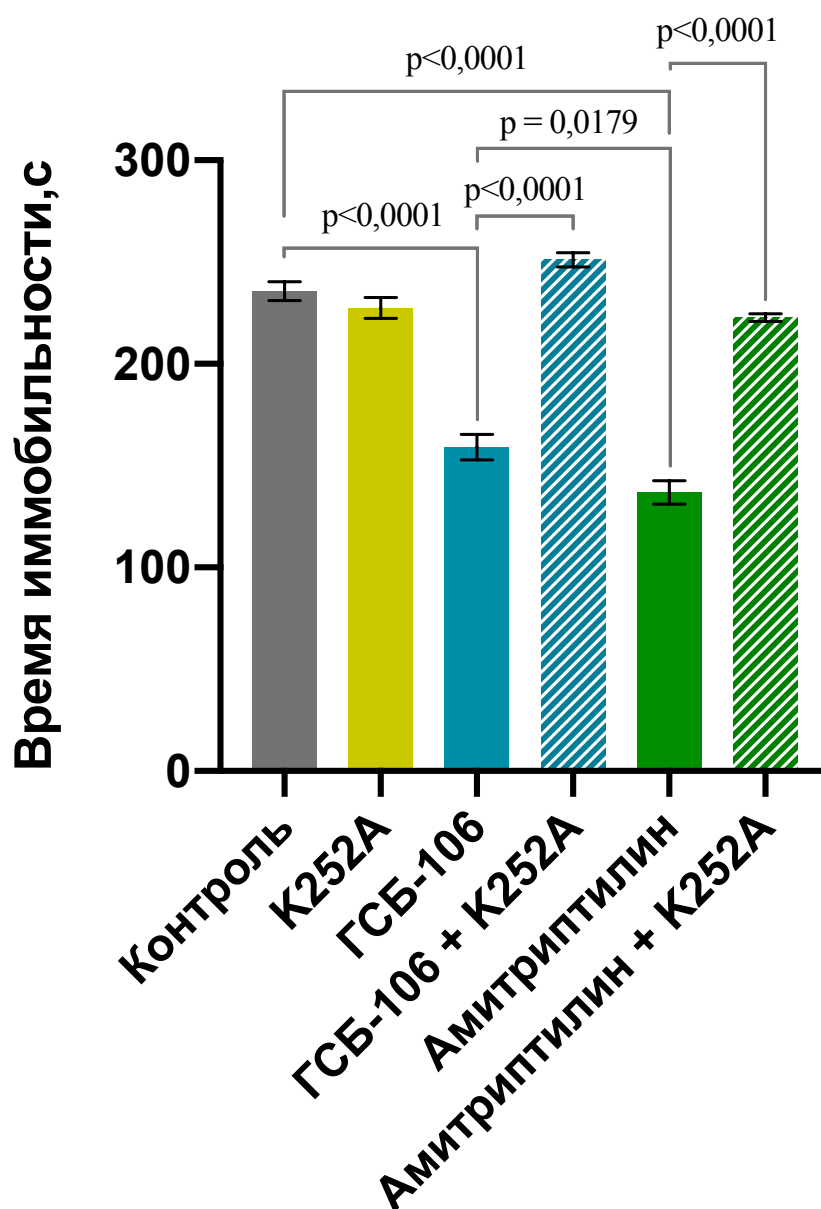


Рис. 18 Влияние блокатора TrkB K252A на антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 и амитриптилина в тесте вынужденного плавания при однократном в/б введении

Величины представляют собой средние значения со стандартной ошибкой среднего. Достоверность различий оценивалась с помощью двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA, тест Тьюки

Таким образом, можно сделать вывод о том, что антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 и амитриптилина критически зависит от активации TrkB, так как при блокировании рецептора эффект ГСБ-106 и амитриптилина полностью предотвращается.

3.4.2. Роль активации P13K/AKT сигнального пути в антидепрессантоподобном действии ГСБ-106

Дизайн эксперимента

Тест вынужденного плавания с избирательным ингибитором P13K – соединением LY294002 – проводили в течение 6 мин без претеста. Предварительно, за 90 мин до теста, однократно вводили LY294002 или 5% раствор ДМСО, а через 30 мин однократно вводили ГСБ-106, amitриптилин или физ. р-р. Интервал 60 мин перед проведением теста вынужденного плавания был выбран в соответствии с литературными данными [57].

Схема дизайна эксперимента представлена на рис. 19.

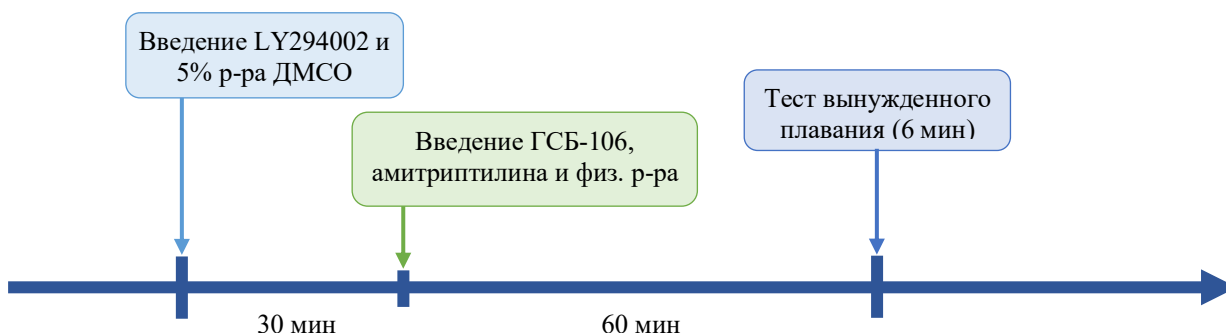


Рис. 19 Схема дизайна эксперимента по изучению вклада P13K/AKT сигнального пути в антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 и amitриптилина в тесте вынужденного плавания при однократном в/б введении

Результаты

Установлено, что ГСБ-106 и amitриптилин статистически значимо снижали время иммобильности мышей на 19% и 44%, соответственно, по сравнению с контрольной группой. Ингибитор P13K – LY294002 – в выбранной дозе не оказывал влияния на время иммобильности мышей, однако устранял

антидепрессантоподобное действие ГСБ-106: отсутствуют достоверные отличия по сравнению с группой контроля. Эффект препарата сравнения amitriptilina на фоне введения LY294002 сохранялся и не изменялся (таблица 14, рис. 20).

Таблица 14 Влияние ингибитора PI3K LY294002 на антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 и amitriptilina в тесте вынужденного плавания

№ п/п	Группа	Вводимые препараты и доза в/б введения, мг/кг	n	Время иммобильности, с ¹	Время иммобильности, % от контрольной группы
1.	«контроль»	5% р-р ДМСО Через 30 мин – физ. р-р	10	235,9 ± 7,6	–
2.	«LY294002»	LY294002 (5,0 мг/кг в 5% ДМСО) Через 30 мин – физ. р-р	10	240,2 ± 10,3	101,8
3.	«ГСБ-106»	5% р-р ДМСО Через 30 мин – ГСБ-106 (0,1 мг/кг в физ. р-ре)	10	191,6 ± 9,4 [*] ^	81,2
4.	«ГСБ-106 + LY294002»	LY294002 (5,0 мг/кг в 5% ДМСО) Через 30 мин – ГСБ-106 (0,1 мг/кг в физ. р-ре)	10	256,8 ± 10,6 [#]	108,9
5.	«амитриптилин»	5% р-р ДМСО Через 30 мин – amitriptilin (10,0 мг/кг)	10	132,2 ± 10,1 [*]	56,0
6.	«амитриптилин + LY294002»	LY294002 (5,0 мг/кг в 5% ДМСО) Через 30 мин – amitriptilin (10,0 мг/кг)	9	137,2 ± 13,8 [*]	58,2

¹ – данные представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой среднего

* – $p < 0,05$ по сравнению с группой «контроль» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Тьюки)

^ – $p < 0,0019$ по сравнению с группой «амитриптилин» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Тьюки)

– $p = 0,0005$ по сравнению с группой «ГСБ-106» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Тьюки)

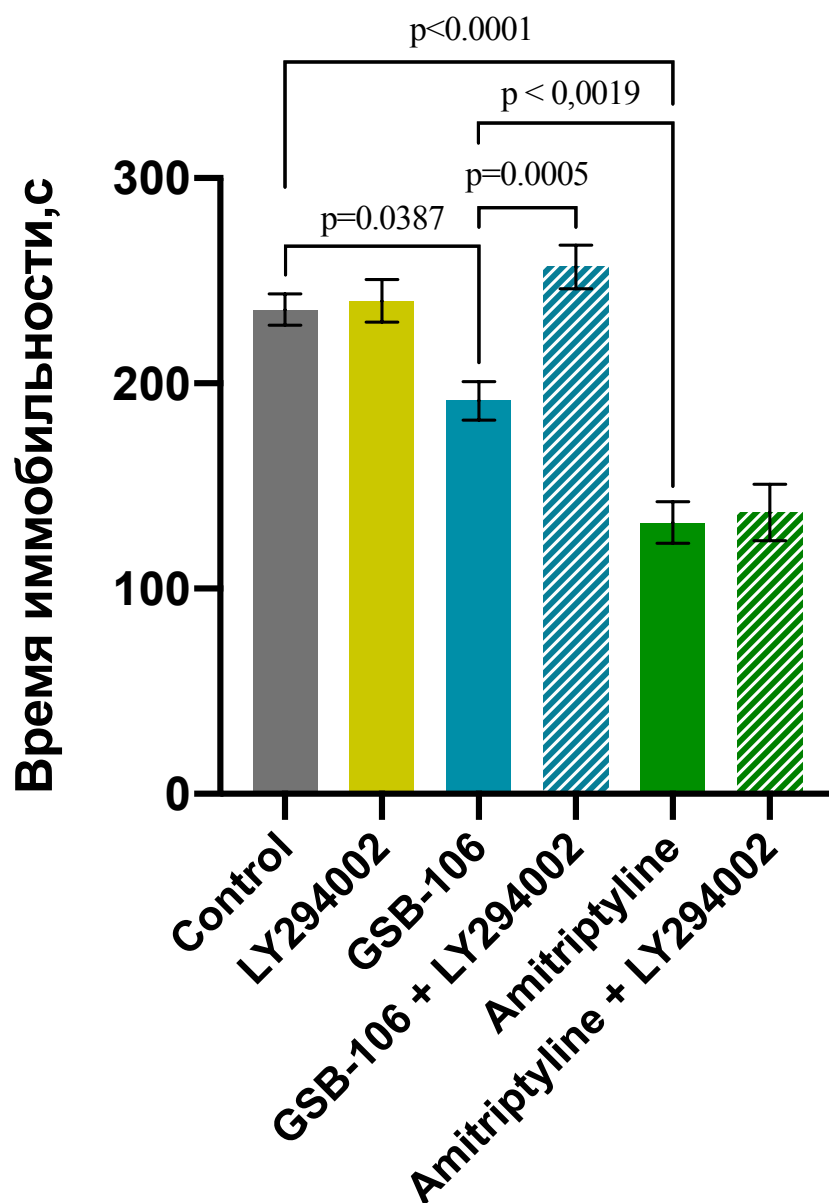


Рис. 20 Влияние ингибитора PI3K LY294002 на антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 и amitриптилина в тесте вынужденного плавания при однократном в/б введении

Величины представляют собой средние значения со стандартной ошибкой среднего. Достоверность различий оценивалась с помощью двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA, тест Тьюки

Таким образом, PI3K/АКТ сигнальный путь вносит ключевой вклад в антидепрессантоподобное действие ГСБ-106, не влияя при этом на активность amitриптилина.

3.4.3. Роль активации MAPK/ERK сигнального пути в антидепрессантоподобном действии ГСБ-106

Дизайн эксперимента

Тест вынужденного плавания с избирательным ингибитором MEK1/2 (MAPK/ERK киназа) PD98059 проводили в течение 6 мин без претеста. Предварительно, за 90 мин до теста, однократно вводили PD98059 в дозе 2,5 мг/кг или 5% раствор ДМСО, а через 30 мин однократно вводили ГСБ-106, amitriptyline или физ. р-р. Интервал 60 мин перед проведением теста вынужденного плавания был выбран в соответствии с литературными данными [57].

Схема дизайна эксперимента представлена на рис. 21.

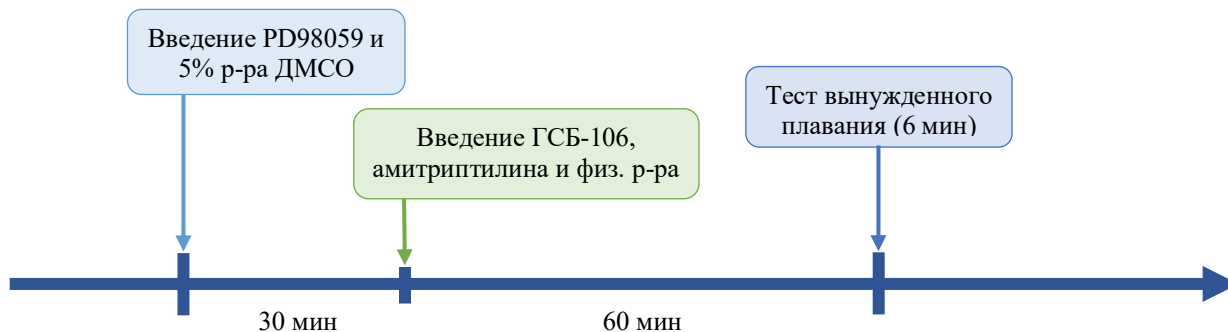


Рис. 21 Схема дизайна эксперимента по изучению вклада MAPK/ERK сигнального пути в антидепрессантоподобное действие ГСБ 106 и amitriptyline в тесте вынужденного плавания при однократном в/б введении

Результаты

Установлено, что ГСБ-106 и amitriptyline статистически значимо снижают время иммобильности по сравнению с контрольной группой на 19% и 34%, соответственно. PD98059 в выбранной дозе не оказывал влияния на время

иммобильности мышей, при этом устранял антидепрессантоподобный эффект ГСБ-106: на фоне введения ингибитора устраняются достоверные различия по сравнению с контрольной группой. Эффект amitriptilina при введении PD98059 сохраняется без изменений (таблица 15, рис. 22).

Таблица 15 Влияние ингибитора MEK1/2 PD98059 на антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 и amitriptilina в тесте вынужденного плавания

№ п/п	Группа	Вводимые препараты и доза в/б введения, мг/кг	n	Время иммобильности, с ¹	Время иммобильности, % от контрольной группы
1.	«контроль»	5% p-p ДМСО Через 30 мин – физ. p-p	10	221,6 ± 11,0	–
2.	«PD98059»	PD98059 (2,5 мг/кг в 5% ДМСО) Через 30 мин – физ. p-p	10	256,2 ± 9,9	101,8
3.	«ГСБ-106»	5% p-p ДМСО Через 30 мин – ГСБ-106 (0,1 мг/кг в физ. p-pe)	10	160,8 ± 9,8*	81,2
4.	«ГСБ-106 + PD98059»	PD98059 (2,5 мг/кг в 5% ДМСО) Через 30 мин – ГСБ-106 (0,1 мг/кг в физ. p-pe)	10	264,9 ± 8,0#	108,9
5.	«амитриптилин»	5% p-p ДМСО Через 30 мин – amitriptilin (10,0 мг/кг)	9	145,9 ± 8,9*	56,0
6.	«амитриптилин + PD98059»	PD98059 (2,5 мг/кг в 5% ДМСО) Через 30 мин – amitriptilin (10,0 мг/кг)	10	139,2 ± 5,0*	58,2

¹ – данные представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой среднего

* – $p < 0,05$ по сравнению с группой «контроль» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Тьюки)

– $p < 0,0001$ по сравнению с группой «ГСБ-106» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Тьюки)

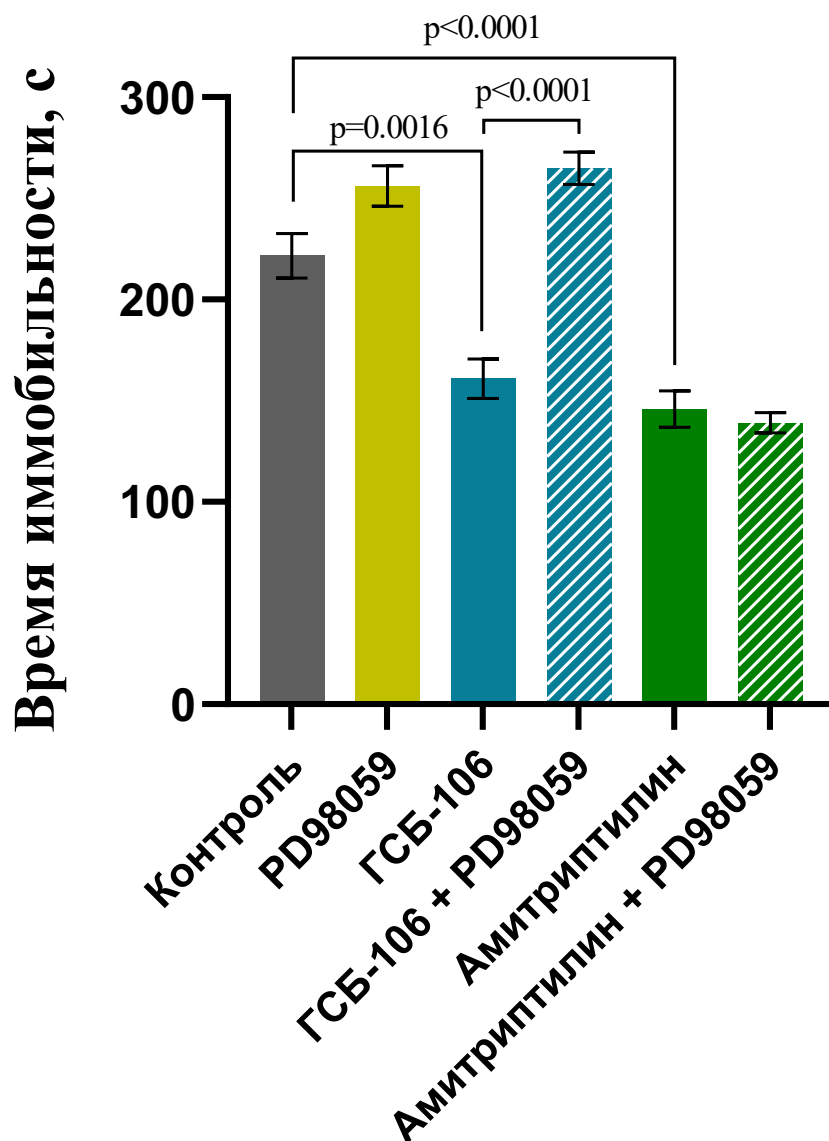


Рис. 22 Влияние ингибитора MEK1/2 PD98059 на антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 и амитриптилина в тесте вынужденного плавания при однократном в/б введении

Величины представляют собой средние значения со стандартной ошибкой среднего
 Достоверность различий оценивалась с помощью двухфакторного дисперсионного анализа
 ANOVA, тест Тьюки

Таким образом, можно сделать вывод о том, что антидепрессантоподобное действие ГСБ-106, но не амитриптилина, критически зависит от активации MAPK/ERK сигнального пути.

3.4.4 Роль активации PLC γ сигнального пути в антидепрессантоподобном действии ГСБ-106

Дизайн эксперимента

Тест вынужденного плавания с избирательным ингибитором PLC γ – соединением U73122 – проводили в течение 5 мин. Предварительно, за 24 ч до теста, проводили претест (10 минут), через 30 мин после которого однократно вводили U73122 в дозе 30 мг/кг или 5% раствор ДМСО, а еще через 30 мин однократно вводили ГСБ-106, amitриптилин или физ. р-р. Интервалы между введением K252A и ГСБ-106, а также проведением теста вынужденного плавания были выбраны в соответствии с результатами ранее проведенных экспериментов.

Схема дизайна эксперимента представлена на рис. 23.

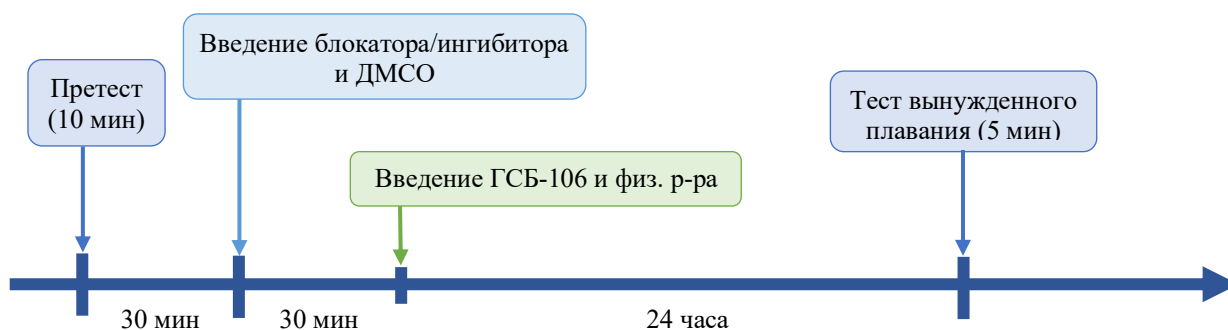


Рис. 23 Схема дизайна эксперимента по изучению вклада PLC γ сигнального пути в антидепрессантоподобное действие ГСБ 106 и amitриптилина в тесте вынужденного плавания при однократном в/б введении

Результаты

В тесте вынужденного плавания установлено, что ГСБ-106 и amitриптилин статистически значимо снижают время иммобильности мышей по сравнению с контрольной группой на 35% и 40%, соответственно. Ингибитор PLC γ U73122 в

выбранной дозе не влиял на время иммобильности мышей, при этом устранял антидепрессантоподобное действие как ГСБ-106, так и amitриптилина: на фоне введения ингибитора отсутствуют достоверные отличия по сравнению с группами контроля (таблица 16, рис. 24).

Таблица 16 Влияние ингибитора PLC γ U73122 на антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 и amitриптилина в тесте вынужденного плавания

№ п/п	Группа	Вводимые препараты и доза в/б введения, мг/кг	n	Время иммобильности, с ¹	Время иммобильности, % от контрольной группы
1.	«контроль»	1% p-p ДМСО Через 30 мин – физ. p-p	10	228,8 ± 6,8	–
2.	«U73122»	U73122 (30 мг/кг в 1% ДМСО) Через 30 мин – физ. p-p	10	212,1 ± 5,5	92,7
3.	«ГСБ-106»	1% p-p ДМСО Через 30 мин – ГСБ-106 (0,1 мг/кг в физ. p-pe)	10	160,8 ± 9,8*	65,3
4.	«ГСБ-106 + U73122»	U73122 (30 мг/кг в 1% ДМСО) Через 30 мин – ГСБ-106 (0,1 мг/кг в физ. p-pe)	10	213,1 ± 5,8#	93,1
5.	«амитриптилин»	1% p-p ДМСО Через 30 мин – Amitриптилин (0,1 мг/кг в физ. p-pe)	10	149,5 ± 3,5*	60,8
6.	«амитриптилин + U73122»	U73122 (30 мг/кг в 1% ДМСО) Через 30 мин – Amitриптилин (0,1 мг/кг в физ. p-pe)	10	204,4 ± 10,9##	89,3

¹ – данные представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой среднего

* – p < 0,0001 по сравнению с группой «Контроль» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Тьюки)

– p < 0,0001 по сравнению с группой «ГСБ-106» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Тьюки)

– p < 0,0001 по сравнению с группой «Амитриптилин» (двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA, тест Тьюки)

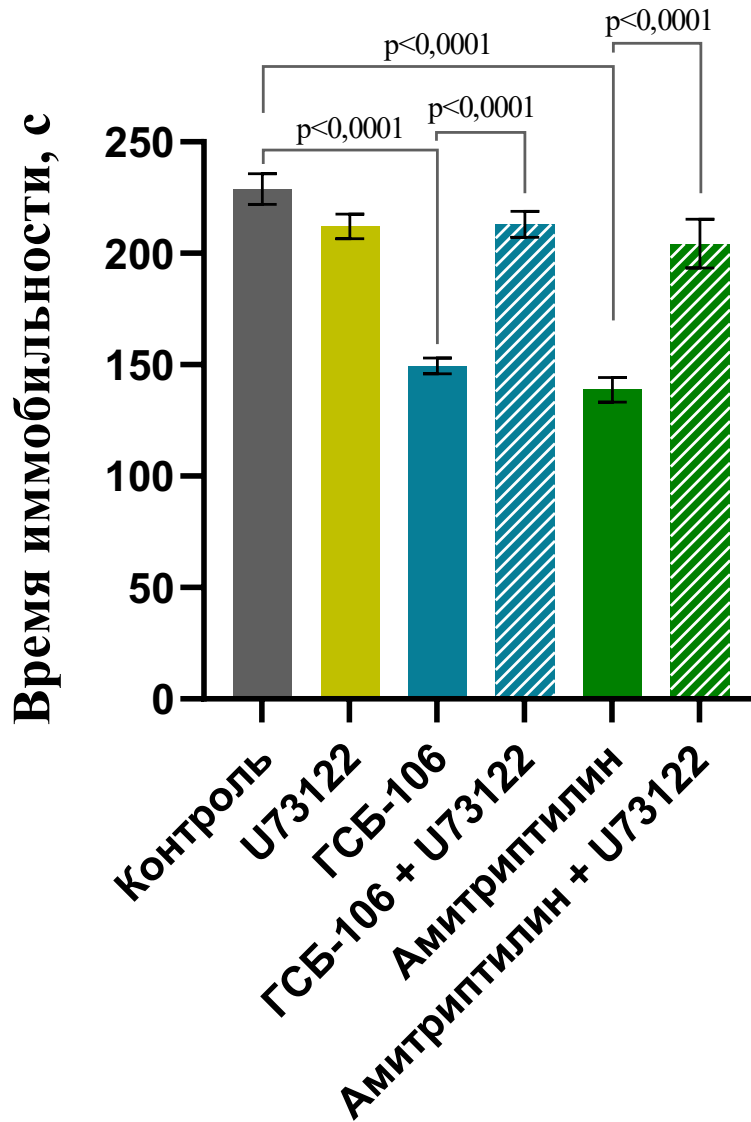


Рис. 24 Влияние блокатора PLC_{γ} U73122 на антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 и амитриптилина в тесте вынужденного плавания при однократном в/б введении

Величины представляют собой средние значения со стандартной ошибкой среднего
 Достоверность различий оценивалась с помощью двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA, тест Тьюки

Таким образом, PLC_{γ} сигнальный путь играет ключевую роль в антидепрессантоподобной активности ГСБ-106 и амитриптилина: при ингибировании данного фермента эффекты исследуемых соединений в тесте вынужденного плавания полностью устраняются.

Полученные результаты опубликованы в работе с соавторами:

[101]

3.4.5. Обсуждение

Ранее проведенные *in vitro* исследования миметика 4-й петли BDNF ГСБ-106 показали, что он способен активировать TrkB рецептор и все три основных ассоциированных с ним сигнальных каскада: PI3/АКТ, MAPK/ERK и PLC γ [4, 9]. Эти результаты позволили сделать предположение о ключевой роли данных молекулярных мишеней в механизме действия ГСБ-106.

Целью настоящего исследования было оценить вклад активации TrkB и отдельных пострецепторных сигнальных каскадов в механизм антидепрессантоподобного действия ГСБ-106 *in vivo*.

В результате серии экспериментов было установлено, что антидепрессантоподобный эффект ГСБ-106 зависит как от активации TrkB, так и от активации всех трех ассоциированных с ним сигнальных путей. Данные результаты согласуются с экспериментами *in vitro* и свидетельствуют в пользу вовлеченности TrkB сигналинга в антидепрессантоподобное действие ГСБ-106.

Взаимосвязь активности амитриптилина и TrkB сигналинга несколько иная: антидепрессантоподобное действие амитриптилина в тесте вынужденного плавания устранялось при блокировании TrkB и ингибировании PLC γ , но не зависело от PI3K и MEK1/2. Этот результат согласуется с имеющимися литературными данными о способности трициклических антидепрессантов активировать TrkB и PLC γ [185]. В частности, для амитриптилина установлена способность активировать TrkB рецептор по тирозиновым остаткам Y515 и Y816, напрямую связанным с активацией PI3K, MAPK и PLC γ [43]. На основании нашего исследования можно предположить, что ключевым ферментом, опосредующим активность антидепрессанта, по-видимому, выступает PLC γ .

Результаты фармакологического ингибиторного анализа представлены в таблице 17.

Таблица 17 Картина зависимости антидепрессантоподобного действия ГСБ-106 и amitриптилина в тесте вынужденного плавания от активации TrkB и ассоциированных с ним пострецепторных сигнальных путей

Молекулярная мишень	Зависимость антидепрессантоподобного действия от активации молекулярной мишени	
	ГСБ-106	Амитриптилин
TrkB (блокирование с помощью K252A)	+	+
PI3K (ингибирование с помощью LY294002)	+	0
MEK1/2 (ингибирование с помощью PD98059)	+	0
PLCγ (ингибирование с помощью U73122)	+	+

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено фармакологическое изучение димерных дипептидных миметиков отдельных петель нейротрофинов NGF и BDNF на предмет их антидепрессантоподобной активности. Депрессия в настоящее время является широко распространенным заболеванием, зачастую не поддающимся эффективному лечению традиционными препаратами из группы классических антидепрессантов. Несмотря на большой арсенал лекарственных средств-антидепрессантов, большинство из них реализует свой эффект за счет влияния на моноаминергические системы головного мозга, в то время как исследования последних десятилетий все более тесно связывают патофизиологию депрессивных расстройств с нарушениями нейропластичности, синаптической пластичности и процессов нейрогенеза, ключевую роль в которых играют нейротрофины, в особенности мозговой нейротрофический фактор.

Сконструированные и синтезированные в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова димерные дипептидные миметики отдельных петель NGF и BDNF были изучены при однократном и субхроническом введении в тесте вынужденного плавания. В результате проведенного исследования было установлено, что при однократном введении антидепрессантоподобным эффектом обладает только миметик 4-й петли мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106, в то время как при субхроническом введении активность была установлена для всех исследуемых миметиков, за исключением миметика 2-й петли BDNF ГТС-201. Наличие или отсутствие антидепрессантоподобного эффекта при однократном введении, по-видимому, зависит от паттерна активации миметиками Trk-ассоциированных пострецепторных сигнальных путей, а отсутствие эффекта ГТС-201 даже при субхроническом введении может объяснено тем, что для данного миметика, в отличие от других, *in vitro* не показана активация PI3K/АКТ сигнального каскада, вносящего значительный вклад в стимуляцию гиппокампального нейрогенеза [56].

В результате проведенного исследования в качестве соединения-лидера был выбран миметик 4-й петли BDNF ГСБ-106.

Антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 подтверждено при однократном п/о введении на модели 10-дневного социального стресса и при хроническом п/о введении на модели 28-дневного социального стресса: ГСБ-106 устраняет проявления ангедонии и дефицит двигательной активности у мышей, подвергнутых стрессу. Кроме того, в условиях 28-дневного стресса при хроническом п/о введении ГСБ-106 также восстанавливает уровни маркеров синапто- и нейрогенеза в гиппокампе. Однократное п/о введение ГСБ-106 после 28-дневного социального стресса, в отличие от 10-дневного, не способствует устранению депрессивноподобного состояния мышей, что, по-видимому, объясняется формированием более глубоких поведенческих и нейрохимических нарушений на фоне длительного стресса [126].

Антидепрессантоподобная активность ГСБ-106 была подтверждена на модели депрессивноподобного состояния, вызванного введением индуктора воспаления – липополисахарида: ГСБ-106 устраняет проявления ангедонии у мышей в тесте предпочтения сахарозы.

Методом фармакологического ингибиторного анализа было подтверждено, что механизм действия ГСБ-106 подобен BDNF и включает в себя активацию TrkB и трех основных пострецепторных сигнальных каскада PI3/AKT, MAPK/ERK и PLC γ . Антидепрессантоподобное действие ГСБ-106 оценивали на фоне блокады TrkB рецептора или избирательного ингибирования киназ PI3K, MEK1/2 или PLC γ . Установлено, что все исследуемые молекулярные мишени вносят ключевой вклад в антидепрессантоподобное действие миметика: на фоне их блокады или ингибирования предотвращается эффект ГСБ-106.

Таким образом, показано, что среди исследованных димерных дипептидных миметиков нейротрофинов наиболее активным и перспективным соединением для дальнейшей разработки в качестве потенциального антидепрессанта является миметик 4-й петли BDNF, для которого *in vitro* показана активация TrkB рецептора

и всех трех основных пострецепторных сигнальных путей, играющих ключевую роль в механизме его антидепрессантоподобного действия. Эффекты ГСБ-106 в поведенческих тестах и на различных моделях депрессивноподобного состояния суммированы в таблице 18.

Таблица 18 Эффекты оригинального дипептидного миметика BDNF ГСБ-106 *in vivo* в поведенческих тестах и на моделях депрессивноподобного состояния у мышей

Экспериментальная модель/тест	Кратность и путь введения ГСБ-106	Доза и форма ГСБ-106	Эффекты ГСБ-106
Тест вынужденного плавания	однократно, в/б	0,1 и 1,0 мг/кг, субстанция	<ul style="list-style-type: none"> снижение общего времени иммобильности
	субхронически (4, 14 и 21 день), в/б	1,0 мг/кг, субстанция	<ul style="list-style-type: none"> снижение общего времени иммобильности
Модель 10-дневного социального стресса	однократно, п/о	0,1 мг/кг, лекарственная форма	<ul style="list-style-type: none"> устранение проявлений ангедонии, тенденция к восстановлению уровня синаптофизина
Модель 28-дневного социального стресса	однократно, п/о	0,1 мг/кг, лекарственная форма	<ul style="list-style-type: none"> отсутствие влияния на сниженную двигательную активность, отсутствие влияния на проявления ангедонии
	хронически (21 день), п/о	0,1 мг/кг, лекарственная форма	<ul style="list-style-type: none"> устранение дефицита двигательной активности, устранение проявлений ангедонии, восстановление уровней синаптофизина, BDNF, CREB и pCREB
Модель нейроиммунной стимуляции ЛПС	однократно, п/о	0,5 мг/кг, лекарственная форма	<ul style="list-style-type: none"> устранение проявлений ангедонии
Фармакологический ингибиторный анализ (тест вынужденного плавания с предварительным введением блокатора TrkB или ингибиторов PI3K, MEK1/2, PLC γ)	однократно, в/б через 30 мин после введения блокатора или ингибитора	0,1 мг/кг, субстанция	<ul style="list-style-type: none"> снижение времени иммобильности без введения блокатора или ингибитора, отсутствие влияния на время иммобильности при введении через 30 мин после ингибитора или блокатора

ВЫВОДЫ

1. В ряду димерных дипептидных миметиков отдельных петель NGF и BDNF антидепрессантоподобной активностью при однократном в/б введении обладает миметик 4-й петли BDNF ГСБ-106, активирующий *in vitro* все три основные ассоциированные с TrkB сигнальные пути: ГСБ-106 снижает время иммобильности в тесте вынужденного плавания в дозах 0,1 и 1,0 мг/кг в/б сопоставимо с амитриптилином. При субхроническом введении антидепрессантоподобной активностью обладают все исследуемые дипептидные миметики, для которых *in vitro* показана активация PI3K/АКТ пути.
2. При однократном п/о введении в дозе 0,1 мг/кг ГСБ-106 в лекарственной форме обладает антидепрессантоподобной активностью в условиях 10-дневного социального стресса, устраняя проявления ангедонии у мышей.
3. В условиях 28-дневного социального стресса ГСБ-106 в лекарственной форме при однократном п/о введении в дозе 0,1 мг/кг не оказывает антидепрессивного эффекта на мышах.
4. На модели 28-дневного социального стресса ГСБ-106 в лекарственной форме проявляет антидепрессантоподобное действие при хроническом (0,1 мг/кг 21 день) п/о введении: устраняет проявления ангедонии, восстанавливает двигательную активность мышей, а также восстанавливает сниженные на фоне стресса уровни синаптофизина, BDNF, CREB и pCREB.
5. На модели депрессивноподобного состояния, вызванного введением липополисахарида ГСБ-106 оказывает антидепрессивное действие при однократном п/о введении в дозе 0,5 мг/кг, устраняя проявления ангедонии у мышей.
6. Антидепрессантоподобный эффект ГСБ-106 зависит от активации TrkB рецептора и трех основных ассоциированных с ним сигнальных каскада PI3K/АКТ, MAPK/ERK и PLC γ : при блокаде рецептора и ингибировании соответствующих киназ эффект ГСБ-106 в тесте вынужденного плавания предотвращается.

Практические рекомендации

Результаты выполненных исследований позволяют сделать заключение о целесообразности дальнейшего изучения соединения-лидера – миметика 4-й петли BDNF ГСБ-106 в качестве потенциального антидепрессанта принципиально нового механизма действия. Соединение имеет перспективу регистрации в качестве лекарственного препарата для лечения депрессивных расстройств, биполярного аффективного расстройства и других заболеваний, сопровождающихся депрессивной симптоматикой.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

AKT	threonine-protein kinase	PI3K	phosphatidylinositol-3-kinase
BDNF	brain-derived neurotrophic factor	PLC γ	phospholipase C gamma
CREB	cAMP response element-binding protein	TrkA и TrkB	tropomyosin-related kinases A and B
ERK	extracellular signal-regulated kinase	В/б	внутрибрюшинно
MAPK	mitogen-activated protein kinase	ДМСО	диметилсульфоксид
NGF	nerve growth factor	ЛПС	липополисахарид, бактериальный эндотоксин
pCREB	phosphoCREB	Физ. р-р	физиологический раствор (0,9% хлорид натрия)

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаю благодарность и признательность академику РАН Середенину С.Б. (научному руководителю ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова») за предоставленную возможность работать по такой перспективной и интересной теме, за помощь в подготовке научных публикаций; члену-корреспонденту РАН Гудашевой Т.А. за чуткое руководство работой и активную помощь на всех этапах исследований, анализа результатов, и написания диссертации; к.б.н. Антиповой Т.А. за проведение совместных исследований и научное консультирование по их результатам; к.б.н. Таллеровой А.В. и к.б.н. Поварниной П.Ю. за всестороннюю помощь в планировании и проведении исследований, за развернутое обсуждение результатов исследований и за помощь в их статистической обработке.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексеева, С.В. Исследование острой и хронической токсичности готовой лекарственной формы дипептидного миметика мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106 [Текст] / С.В. Алексеева, А.В. Сорокина, А.В. Волкова, В.В. Забродина, И.А. Мирошкина, К.С. Качалов, И.В. Алексеев, А.Д. Захаров, П.Ю. Поварнина, А.Д. Дурнев // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2019. – № 2. – С. 46-50.
2. Всемирная Организация Здравоохранения. Депрессия [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/depression>.
3. Гудашева, Т.А. Дизайн и синтез дипептидных миметиков мозгового нейротрофического фактора [Текст] / Т.А. Гудашева, А.В. Тарасюк, С.В. Помогайбо, И.О. Логвинов, П.Ю. Поварнина, Т.А. Антипова, С.Б. Середенин // Биоорганическая Химия. – 2012. – Т. 38, № 3. – С. 280-290.
4. Гудашева, Т.А. Дипептидный миметик 4-й петли мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106 активирует TrkB, Erk, Akt и способствует выживаемости нейронов *in vitro* [Текст] / Т.А. Гудашева, И.О. Логвинов, Т.А. Антипова, С.Б. Середенин // Доклады Академии наук. – 2013. – Т. 451, № 5. – С. 577-580.
5. Гудашева, Т.А. Анализ зависимости антидепрессивного действия лигандов рецепторов TrkB от активации MAP-киназного пути [Текст] / Т.А. Гудашева, И.О. Логвинов, П.Ю. Поварнина, Т.А. Антипова, С.Б. Середенин // Доклады Академии наук. – 2015. – Т. 460, № 3. – С. 346-348.
6. Гудашева, Т.А. Новый дипептидный миметик мозгового нейротрофического фактора селективно активирует сигнальный путь MAPK/ERK [Текст] / Т.А. Гудашева, А.В. Тарасюк, Н.М. Сазонова, П.Ю. Поварнина, Т.А. Антипова, С.Б. Середенин // Доклады Академии наук. – 2017. – Т. 476, № 1. – С. 108-112.

7. Гудашева, Т.А. Мозговой нейротрофический фактор и его низкомолекулярные миметики [Текст] / Т.А. Гудашева, А.В. Тарасюк, П.Ю. Поварнина, С.Б. Середенин // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2017. – № 3. – С. 3-13.

8. Гудашева, Т.А. Дипептидный миметик BDNF ГСБ-106 с антидепрессивной активностью стимулирует синаптогенез [Текст] / Т.А. Гудашева, П.Ю. Поварнина, Т.А. Антипова, С.Б. Середенин // Доклады Академии наук. – 2018. – Т. 481, № 6. – С. 691-693.

9. Гудашева, Т.А. Дипептидные миметики отдельных петель NGF и BDNF активируют PLC- γ 1 [Текст] / Т.А. Гудашева, И.О. Логвинов, С.В. Николаев, Т.А. Антипова, П.Ю. Поварнина, С.Б. Середенин // Доклады Российской академии наук. Науки о жизни. – 2020. – Т. 494, № 1. – С. 486-490.

10. Гудашева, Т.А. Новые низкомолекулярные миметики фактора роста нервов [Текст] / Т.А. Гудашева, Т.А. Антипова, С.Б. Середенин // Доклады Академии наук. – 2010. – Т. 434, № 4. – С. 549-552.

11. Гудашева, Т.А. Дипептидный миметик мозгового нейротрофического фактора предотвращает нарушение нейрогенеза у стрессированных мышей [Текст] / Т.А. Гудашева, П.Ю. Поварнина, С.Б. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2016. – Т. 162, № 10. – С. 448-451.

12. Сорокина, А.В. Исследование острой и хронической токсичности готовой лекарственной формы ГК-2 [Текст] / А.В. Сорокина, С.В. Алексеева, И.А. Мирошкина, А.В. Волкова, В.В. Забродина, К.С. Качалов, И.В. Алексеев, А.Д. Захаров, П.Ю. Поварнина, А.Д. Дурнев // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2019. – № 2. – С. 51-58.

13. Логвинов, И.О. Нейропротективные свойства дипептидного миметика мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106 в экспериментах *in vitro* [Текст] / И.О. Логвинов, Т.А. Антипова, Т.А. Гудашева, А.В. Тарасюк, П.И. Антипов, С.Б. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, № 3. – С. 319-322.

14. Межлумян, А.Г. Скрининговое изучение эффектов миметиков фактора роста нервов и мозгового нейротрофического фактора на экспериментальной модели депрессии [Текст] / А.Г. Межлумян, А.В. Таллерова, П.Ю. Поварнина, Н.М. Сазонова, А.В. Тарасюк, Т.А. Гудашева // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2020. – № 1. – С. 11-17.

15. Сазонова, Н.М. Синтез димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2, потенциального нейропротективного препарата [Текст] / Н.М. Сазонова, А.В. Тарасюк, Д.В. Курилов, С.В. Помогайбо Т. А. Гудашева // Химико-фармацевтический журнал. – 2015. – Т. 49, № 7. – С. 10-19.

16. Островская, Р.У. Антидиабетические свойства низкомолекулярных миметиков BDNF зависят от характера активации пострецепторных сигнальных путей [Текст] / Р.У. Островская, С.С. Ягубова, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2017. – Т. 164, № 12. – С. 701-705.

17. Островская, Р.У. Низкомолекулярный миметик NGF корректирует когнитивный дефицит и депрессивные проявления при экспериментальном диабете [Текст] / Р.У. Островская, С.С. Ягубова, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2017. – Т. 2, № 33. – С. 100-108.

18. Поварнина, П.Ю. Антипаркинсонические свойства дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 в экспериментах *in vivo* [Текст] / П.Ю. Поварнина, Т.А. Гудашева, О.Н. Воронцова, Н.А. Бондаренко, С.Б. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – Т. 151, № 6. – С. 634-637.

19. Поварнина, П.Ю. Нейропротекторные эффекты димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 на модели двусторонней необратимой перевязки сонных артерий у крыс [Текст] / П.Ю. Поварнина, Т.А. Гудашева, О.Н. Воронцова, С.В. Николаев, Т.А. Антипова, Р.У. Островская, С.Б. Середенин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – Т. 75, № 9. – С. 15-20.

20. Поварнина, П.Ю. Антидиабетическая активность оригинального дипептидного миметика фактора роста нервов [Текст] / П.Ю. Поварнина, И.В. Озерова, Р.У. Островская, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // Доклады Академии наук. – 2013. – Т. 449, № 3. – С. 364-366.

21. Поварнина, П.Ю. Оригинальный дипептидный миметик фактора роста нервов ГК-2 восстанавливает нарушенные когнитивные функции в крысиных моделях болезни Альцгеймера [Текст] / П.Ю. Поварнина, О.Н. Воронцова, Т.А. Гудашева, Р.У. Островская, С.Б. Середенин // Acta Naturae (русскоязычная версия). – 2013. – Т. 5, № 3(18). – С. 88-95.

22. Поварнина, П.Ю. Антидепрессивная активность димерного дипептидного миметика BDNF ГСБ-106 при однократном пероральном введении на модели социального стресса у мышей [Текст] / П.Ю. Поварнина, А.В. Таллерова, А.Г. Межлумян, С.В. Круглов, Т.А. Антипова, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. – Т. 83, № 4. – С. 3-7.

23. Поварнина, П.Ю. Димерные дипептидные миметики 3-й и 4-й петель фактора роста нервов активны на модели ишемического инсульта [Текст] / П.Ю. Поварнина, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2016. – № 3. – С. 34-37.

24. Сазонова, Н.М. Синтез фармакологически активного аналога дипептидного миметика BDNF ГСБ-106 [Текст] / Н.М. Сазонова, А.В. Тарасюк, С.В. Никитин, И.О. Логвинов, А.Г. Межлумян, О.Н. Воронцова, П.Ю. Поварнина, Т.А. Антипова, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2019. – Т. 22, №7. – С. 3-9.

25. Сазонова, Н.М. Синтез и биологические свойства нового дипептидного миметика 2-й петли мозгового нейротрофического фактора [Текст] / Н.М. Сазонова, А.В. Тарасюк, А.Н. Шумский, П.Ю. Поварнина, С.В. Круглов, Т.А. Антипова, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // Химико-фармацевтический журнал. – 2018. – Т. 476, № 1. – С. 108-112.

26. Сазонова, Н.М. Синтез и нейропротекторная активность *in vitro* диастереомеров димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 [Текст] / Н.М. Сазонова, А.В. Тарасюк, А.Н. Шумский, А.Г. Ребеко, П.И. Антипов, И.О. Логвинов, Т.А. Антипова, Т.А. Гудашева // Химико-фармацевтический журнал. – 2018. – Т. 52, № 8. – С. 25-31.

27. Середенин, С.Б. Нейропротективное и антиамнестическое действие дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 при экспериментальном ишемическом инфаркте коры головного мозга [Текст] / С.Б. Середенин, Г.А. Романова, Т.А. Гудашева, Ф.М. Шакова, И.В. Барсков, Е.В. Стельмашук, Т.А. Антипова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – Т. 150, № 10. – С. 406-409.

28. Середенин, С.Б. Антидепрессивный эффект оригинального низкомолекулярного миметика BDNF, димерного дипептида ГСБ-106 [Текст] / С.Б. Середенин, Т.А. Воронина, Т.А. Гудашева, Т.Л. Гарибова, Г.М. Молодавкин, С.А. Литвинова, О.А. Елизарова, В.И. Посева // Acta Naturae (русскоязычная версия). – 2013. – Т. 5, № 4(19). – С. 116-120.

29. Середенин, С.Б. Создание фармакологически активной малой молекулы, обладающей свойствами фактора роста нервов [Текст] / С.Б. Середенин, Т.А. Гудашева // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2015. – Т. 115, № 6. – С. 63-70.

30. Середенин, С.Б. Экспериментальная оценка терапевтического окна нейропротективной активности препарата ГК-2, низкомолекулярного миметика фактора роста нервов [Текст] / С.Б. Середенин, П.Ю. Поварнина, Т.А. Гудашева // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2018. – Т. 118, № 7. – С. 49-53.

31. Таллерова, А.В. Антидепрессивные свойства дипептидного миметика мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106 в тесте Порсолта при внутрибрюшинном субхроническом и хроническом введении мышам [Текст] / А.В. Таллерова, П.Ю. Поварнина, С.В. Минаев, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2020. – № 4. – С. 24-27.

32. Таллерова, А.В. Эффекты оригинальных соединений ГСБ-106, ГМЛ-3 и ГЗК-111 на экспериментальной модели ангедонии, индуцированной липополисахаридом [Текст] / А.В. Таллерова, А.Г. Межлумян, М.А. Яркова, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // Химико-фармацевтический журнал. – 2021. – Т. 55, № 2. – С. 3-7.

33. Ягубова, С.С. Дипептидный миметик фактора роста нервов ГК-2 сохраняет антидиабетическую активность при системном, в том числе пероральном, введении у мышей [Текст] / С.С. Ягубова, Р.У. Островская, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2017. – Т. 80, № 8. – С. 23-26.

34. Ягубова, С.С. PI3K/Акт каскад включен в антидиабетическое действие соединения ГСБ-214 низкомолекулярного миметика BDNF [Текст] / С.С. Ягубова, Р.У. Островская, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2020. – Т. 169, № 6. – С. 712-715.

35. Abdelhamid, R.E. Depressive behavior in the forced swim test can be induced by TRPV1 receptor activity and is dependent on NMDA receptors [Text] / R.E. Abdelhamid, K.J.Kovács, M.G. Nunez, A.A. Larson // Pharmacological Research. – 2014. – Vol. 79. – P. 21-27.

36. Aguilar-Valles, A. Translational control of depression-like behavior via phosphorylation of eukaryotic translation initiation factor 4E [Text] / A. Aguilar-Valles, N. Haji, D. De Gregorio, E. Matta-Camacho, M.J. Eslamizade, J. Popic, V. Sharma, R. Cao, C. Rummel, A. Tanti, S. Wiebe, N. Nuñez, S. Comai, R. Nadon, G. Luheshi, N. Mechawar, G. Turecki, J.C. Lacaille, G. Gobbi, N. Sonenberg // Nature Communications. – 2018. – Vol. 9, № 1. – P. 1-14.

37. Alfonso, J. Regulation of hippocampal gene expression is conserved in two species subjected to different stressors and antidepressant treatments [Text] / J. Alfonso, L.R. Frick, D.M. Silberman, M.L. Palumbo, A.M. Genaro, A.C. Frasch // Biological Psychiatry. – 2006. – Vol. 59, № 3. – P. 244-251.

38. Allen, A.P. Serum BDNF as a peripheral biomarker of treatment-resistant depression and the rapid antidepressant response: A comparison of ketamine and ECT

[Text] / A.P. Allen, M. Naughton, J. Dowling, A. Walsh, F. Ismail, G. Shorten, L. Scott, D.M. McLoughlin, J.F. Cryan, T.G. Dinan, G. Clarke // *Journal of Affective Disorders*. – 2015. – Vol. 186. – P. 306-311.

39. Altar, C.A. Effects of electroconvulsive seizures and antidepressant drugs on brain-derived neurotrophic factor protein in rat brain [Text] / C.A. Altar, R.E. Whitehead, R. Chen, G. Wörtwein, T.M. Madsen // *Biological psychiatry*. – 2003. – Vol. 54, № 7. – P. 703-709.

40. Andero, R. Effect of 7,8-dihydroxyflavone, a small-molecule TrkB agonist, on emotional learning [Text] / R. Andero, S.A. Heldt, K. Ye, X. Liu, A. Armario, K. Ressler // *American Journal of Psychiatry*. – 2011. – Vol. 168, 2. P. 163-172.

41. Anderson, G. The Kynurenine and Melatonergic Pathways in Psychiatric and CNS Disorders [Text] / G. Anderson // *Current pharmaceutical design*. – 2016. – Vol. 22, № 8. – P. 947-948.

42. Anderson, I.M. Decreased plasma tryptophan concentration in major depression: relationship to melancholia and weight loss [Text] / I.M. Anderson, M. Parry-Billings, E.A. Newsholme, J.R. Poortmans, P.J. Cowen // *Journal of Affective Disorders*. – 1990. – Vol. 20, № 3. – P. 185-191.

43. Aonurm-Helm, A. NCAM-deficient mice show prominent abnormalities in serotonergic and BDNF systems in brain - Restoration by chronic amitriptyline [Text] / A. Aonurm-Helm, K. Anier, T. Zharkovsky, E. Castrén, T. Rantamäki, V. Stepanov, J. Järv, A. Zharkovsky // *European Neuropsychopharmacology*. – 2015. – Vol. 25, № 12. – P. 2394-2403.

44. Arango, V. Localized alterations in pre- and postsynaptic serotonin binding sites in the ventrolateral prefrontal cortex of suicide victims [Text] / V. Arango, M.D. Underwood, A.V. Gubbi, J.J. Mann // *Brain research*. – 1995. – Vol. 688, № 1-2. – P. 121-133.

45. Aschbacher, K. Maintenance of a positive outlook during acute stress protects against pro-inflammatory reactivity and future depressive symptoms [Text] / K. Aschbacher, E. Epel, O.M. Wolkowitz, A.A. Prather, E. Puterman, F.S. Dhabhar // *Brain, behavior, and immunity*. – 2012. – Vol. 26, № 2. – P. 346-352.

46. Avgustinovich, D.F. A model of anxious depression: Persistence of behavioral pathology [Text] / D.F. Avgustinovich, I.L. Kovalenko, N.N. Kudryavtseva // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2005. – Vol. 35, № 9. – P. 917-924.

47. Balu, D.T. Differential regulation of central BDNF protein levels by antidepressant and non-antidepressant drug treatments [Text] / D.T. Balu, B.A. Hoshaw, J.E. Malberg, S. Rosenzweig-Lipson, L.E. Schechter, I. Lucki // *Brain Research*. – 2008. – Vol. 1211. – P. 37-43.

48. Banerjee, R. Decreased mRNA and Protein Expression of BDNF , NGF , and their Receptors in the Hippocampus from Suicide: An Analysis in Human Postmortem Brain [Text] / R. Banerjee, A.K. Ghosh, B. Ghosh, S. Bhattacharyya, A.C. Mondal // *Clinical Medicine Insights: Pathology*. – 2013. – Vol. 6. – P. 1-11.

49. Barde, Y. Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain [Text] / Y. Barde, D. Edgar, H. Thoenen // *The EMBO journal*. – 1982. – Vol. 1, № 5. – P. 549-553.

50. Barriga, G. G.-D. 7,8-dihydroxyflavone ameliorates cognitive and motor deficits in a Huntington's disease mouse model through specific activation of the PLC γ 1 pathway [Text] / G.G.-D. Barriga, A. Giralt, M. Anglada-Huguet, N. Gaja-Capdevila, J.G. Orlandi, J. Soriano, J.-M. Canals, J. Alberch // *Human Molecular Genetics*. – 2017. – Vol. 26, № 16. – P. 3144-3160.

51. Benito, E. CREB's control of intrinsic and synaptic plasticity: implications for CREB-dependent memory models [Text] / E. Benito, A. Barco // *Trends in Neurosciences*. – 2010. – Vol. 33, № 5. – P. 230-240.

52. Berman, R. M. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients [Text] / R.M. Berman, A. Cappiello, A. Anand, D.A. Oren, G.R. Heninger, D.S. Charney, J.H. Krystal // *Biological psychiatry*. – 2000. – Vol. 47, № 47. – P. 351-354.

53. Berton, O. Essential Role of BDNF in the Mesolimbic Dopamine Pathway in Social Defeat Stress [Text] / O. Berton, C.A. McClung, R.J. Dileone, V. Krishnan, W. Renthal, S.J. Russo, D. Graham, N.M. Tsankova, C.A. Bolanos, M. Rios, L.M. Monteggia, D.W. Self, E.J. Nestler // *Science*. – 2006. – Vol. 311, № 5762. – P. 864-868.

54. Björkqvist, K. Social defeat as a stressor in humans [Text] / K. Björkqvist // *Physiology & behavior*. – 2001. – Vol. 73, № 3. – P. 435-442.
55. Blendy, J.A. The role of CREB in depression and antidepressant treatment [Text] / J.A. Blendy // *Biological psychiatry*. – 2006. – Vol. 59, № 12. – P. 1144-1150.
56. Bruel-Jungerman, E. Inhibition of PI3K-Akt Signaling Blocks Exercise-Mediated Enhancement of Adult Neurogenesis and Synaptic Plasticity in the Dentate Gyrus [Text] / E. Bruel-Jungerman, A. Veyrac, F. Dufour, J. Horwood, S. Laroche, S. Davis // *PLoS ONE*. – 2009. – Vol. 4, № 11. – P. e7901.
57. Budni, J. Involvement of PI3K, GSK-3 β and PPAR γ in the antidepressant-like effect of folic acid in the forced swimming test in mice [Text] / J. Budni, K.R. Lobato, R.W. Binfaré, A.E. Freitas, A.P. Costa, M.D. Martín-de-Saavedra, R.B. Leal, M.G. Lopez, A.L.S. Rodrigues // *Journal of Psychopharmacology*. – 2012. – Vol. 26, № 5. – P. 714-723.
58. Burgdorf, J. GLYX-13, a NMDA receptor glycine-site functional partial agonist, induces antidepressant-like effects without ketamine-like side effects [Text] / J. Burgdorf, X. Zhang, K.L. Nicholson, R.L. Balster, J.D. Leander, P.K. Stanton, A.L. Gross, R.A. Kroes, J.R. Moskal // *Neuropsychopharmacology*. – 2013. – Vol. 38, № 5. – P. e0188043.
59. Burstein, O. Escitalopram and NHT normalized stress-induced anhedonia and molecular neuroadaptations in a mouse model of depression [Text] / O. Burstein, M. Franko, E. Gale, A. Handelsman, S. Barak, S. Motsan, A. Shamir, R. Toledano, O. Simhon, Y. Hirshler, G. Chen, R. Doron // *PLoS ONE*. – 2017. – Vol. 12, № 11. – P. 1-14.
60. Can, A. The mouse forced swim test [Text] / A. Can, D.T. Dao, M. Arad, C.E. Terrillion, S.C. Piantadosi, T.D. Gould // *Journal of Visualized Experiments*. – 2012. – № 59. P. e3638.
61. Cargnello, M. Activation and function of the MAPKs and their substrates, the MAPK-activated protein kinases [Text] / M. Cargnello, P.P. Roux // *Microbiology and molecular biology reviews*. – 2011. – Vol. 75, № 1. – P. 50-83.

62. Chao, M.V. Neurotrophins: to cleave or not to cleave [Text] / M.V. Chao, M. Bothwell // *Neuron*. – 2002. – Vol. 33, № 1. – P. 9-12.
63. Chapman, T.R. Aging and infection reduce expression of specific brain-derived neurotrophic factor mRNAs in hippocampus [Text] / T.R. Chapman, R.M. Barrientos, J.T. Ahrendsen, J.M. Hoover, S.F. Maier, S.L. Patterson // *Neurobiology of aging*. – 2012. – Vol. 33, № 4. – P. 832.e1-832.e14.
64. Charney, D. S. Life stress, genes, and depression: multiple pathways lead to increased risk and new opportunities for intervention [Text] / D.S. Charney, H.K. Manji // *Science's STKE : signal transduction knowledge environment*. – 2004. – Vol. 2004, № 225. – P. re5.
65. Chaturvedi, H. K. Interaction between N-methyl-D-aspartate receptor antagonists and imipramine in shock-induced depression [Text] / H.K. Chaturvedi, D. Chandra, J.S. Bapna // *Indian journal of experimental biology*. – 1999. – Vol. 37, № 10. – P. 952-958.
66. Chen, M.J. Norepinephrine induces BDNF and activates the PI-3K and MAPK cascades in embryonic hippocampal neurons [Text] / M.J. Chen, T.V. Nguyen, C.J. Pike, A.A. Russo-Neustadt // *Cellular Signalling*. – 2007. – Vol. 19, № 1. – P. 114-128.
67. Chen, Y.W. Significantly lower nerve growth factor levels in patients with major depressive disorder than in healthy subjects: a meta-analysis and systematic review [Text] / Y.W. Chen, P.Y. Lin, K.Y. Tu, Y.S. Cheng, C.K. Wu, P.T. Tseng // *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. – 2015. – Vol. 11. – P. 925-933.
68. ClinicalTrials.gov. Study IDs: NCT02932943, NCT02943564 and NCT02943577 [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02932943?id=NCT02932943&draw=2&rank=1>; <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02943564?id=NCT02943564&draw=2&rank=1>; <https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02943577?id=NCT02943577&draw=2&rank=1>

69. Coppel, A.L. Bi-phasic change in BDNF gene expression following antidepressant drug treatment [Text] / A.L. Coppel, Q. Pei, T.S.C. Zetterström // *Neuropharmacology*. – 2003. – Vol. 44, № 7. – P. 903-910.

70. Cordeiro, R.C. Leptin Prevents Lipopolysaccharide-Induced Depressive-Like Behaviors in Mice: Involvement of Dopamine Receptors [Text] / R.C. Cordeiro, A.J.M. Chaves Filho, N.S. Gomes, V.S. Tomaz, C.D. Medeiros, A.I.G. Queiroz, M. Maes, D.S. Macedo, A.F. Carvalho // *Frontiers in psychiatry*. – 2019. – Vol. 10. – P. 125.

71. Corwin, E.J. Symptoms of postpartum depression associated with elevated levels of interleukin-1 beta during the first month postpartum [Text] / E.J. Corwin, N. Johnston, L. Pugh // *Biological research for nursing*. – 2008. – Vol. 10, № 2. – P. 128-133.

72. Cubells, J.F. Differential in vivo regulation of mRNA encoding the norepinephrine transporter and tyrosine hydroxylase in rat adrenal medulla and locus ceruleus [Text] / J.F. Cubells, K.S. Kim, H. Baker, B.T. Volpe, Y. Chung, T.A. Houpt, T.C. Wessel, T.H. Joh // *Journal of Neurochemistry*. – 1995. – Vol. 65, № 2. – P. 502-509.

73. O'Connor, J.C. Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase activation in mice [Text] / J.C. O'Connor, M.A. Lawson, C. André, M. Moreau, J. Lestage, N. Castanon, K.W. Kelley, R. Dantzer // *Molecular psychiatry*. – 2009. – Vol. 14, № 5. – P. 511-522.

74. Deinhardt, K. Trk Receptors [Text] / K. Deinhardt, M.V. Chao // *Handbook of experimental pharmacology*. – 2014. – Vol. 220. – P. 103-119.

75. Diniz, B.S. Reduced serum nerve growth factor in patients with late-life depression [Text] / B.S. Diniz, A.L. Teixeira, R. Machado-Vieira, L.L. Talib, W.F. Gattaz, O.V. Forlenza // *The American journal of geriatric psychiatry : official journal of the American Association for Geriatric Psychiatry*. – 2013. – Vol. 21, № 5. – P. 493-496.

76. Domeniconi, M. Pro-NGF secreted by astrocytes promotes motor neuron cell death [Text] / M. Domeniconi, B.L. Hempstead, M.V. Chao // *Molecular and cellular neurosciences*. – 2007. – Vol. 34, № 2. – P. 271-279.

77. Drevets, W.C. Serotonin-1A receptor imaging in recurrent depression: replication and literature review [Text] / W.C. Drevets, M.E. Thase, E.L. Moses-Kolko, J. Price, E. Frank, D.J. Kupfer, C. Mathis // *Nuclear Medicine and Biology*. – 2007. – Vol. 34, № 7. – P. 865-877.
78. Drevets, W.C. Brain structural and functional abnormalities in mood disorders: implications for neurocircuitry models of depression [Text] / W.C. Drevets, J.L. Price, M.L. Furey // *Brain Structure and Function*. – 2008. – Vol. 213, № 1-2. – P. 93-118.
79. Du, J. Enhancing AMPA to NMDA throughput as a convergent mechanism for antidepressant action [Text] / J. Du, R. Machado-Vieira, S. Maeng, K. Martinowich, H.K. Manji, C.A.Jr. Zarate // *Drug discovery today. Therapeutic strategies*. – 2006. – Vol. 3, № 4. – P. 519-526.
80. Duman, R.S. A neurotrophic hypothesis of depression: role of synaptogenesis in the actions of NMDA receptor antagonists [Text] / R.S. Duman, N. Li // *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. – 2012. – Vol. 367, № 1601. – P. 2475-2484.
81. Dwivedi, Y. Reduced activation and expression of ERK1/2 MAP kinase in the post-mortem brain of depressed suicide subjects [Text] / Y. Dwivedi, H.S. Rizavi, R.C. Roberts, R.C. Conley, C.A. Tamminga, G.N. Pandey // *Journal of Neurochemistry*. – 2001. – Vol. 77, № 3. – P. 916-928.
82. Dwivedi, Y. Suicide brain is associated with decreased expression of neurotrophins [Text] / Y. Dwivedi, A.C. Mondal, H.S. Rizavi, R.R. Conley // *Biological Psychiatry*. – 2005. – Vol.58, № 4. – P. 315-324.
83. Dwivedi, Y. Single and repeated stress-induced modulation of phospholipase C catalytic activity and expression: role in LH behavior [Text] / Y. Dwivedi, A.C. Mondal, H.S. Rizavi, P.K. Shukla, G.N. Pandey // *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. – 2005. – Vol. 30, № 3. – P. 473-483.
84. Dwivedi, Y. ERK MAP kinase signaling in post-mortem brain of suicide subjects: differential regulation of upstream Raf kinases Raf-1 and B-Raf [Text] / Y.

Dwivedi, H.S. Rizavi, R.R. Conley, G.N. Pandey // *Molecular Psychiatry*. – 2006. – Vol. 11, № 1. – P. 86-98.

85. Dwivedi, Y. Neurotrophin receptor activation and expression in human postmortem brain: effect of suicide [Text] / Y. Dwivedi, H.S. Rizavi, H. Zhang, A.C. Mondal, R.C. Roberts, R.R. Conley, G.N. Pandey // *Biological Psychiatry*. – 2009. – Vol. 54, № 4. – P. 319-328.

86. Eisch, A.J. Brain-derived neurotrophic factor in the ventral midbrain-nucleus accumbens pathway: a role in depression [Text] / A.J. Eisch, C.A. Bolaños, J. de Wit, R.D. Simonak, C.M. Pudiak, M.Barrot, J. Verhaagen, E.J. Nestler // *Biological psychiatry*. – 2003. – Vol. 54, № 10. – P. 994-1005.

87. El-Hage, W. Mechanisms of antidepressant resistance [Text] / W. El-Hage, S. Leman, V. Camus, C. Belzung // *Frontiers in Pharmacology*. – 2013. – Vol. 4, № 146. – P. 1-23.

88. Fava, M. Double-blind, placebo-controlled, dose-ranging trial of intravenous ketamine as adjunctive therapy in treatment-resistant depression (TRD) [Text] / M. Fava, M.P. Freeman, M. Flynn, H. Judge, B.B. Hoepfner, C. Cusin, D.F. Ionescu, S.J. Mathew, L.C. Chang, D.V. Iosifescu, J. Murrough, C. DeBattista, A.F. Schatzberg, M.H. Trivedi, M.K. Jha, G. Sanacora, S.T. Wilkinson, G.I. Papakostas // *Molecular psychiatry*. – 2018. – Vol. 25, №7. – P. 1592-1603.

89. Finnema, S.J. Imaging synaptic density in the living human brain [Text] / S.J. Finnema, N.B. Nabulsi, T. Eid, K. Detyniecki, S.F. Lin, M.K. Chen, R. Dhaher, D. Matuskey, E. Baum, D. Holden, D.D. Spencer, J. Mercier, J. Hannestad, Y. Huang, R.E. Carson // *Science Translational Medicine*. – 2016. – Vol. 8, № 348. – P. 1-10.

90. First, M. The effects of fluoxetine treatment in a chronic mild stress rat model on depression-related behavior, brain neurotrophins and ERK expression [Text] / M. First, I. Gil-Ad, M. Taler, I. Tarasenko, N. Novak, A. Weizman // *Journal of Molecular Neuroscience*. – 2011. – Vol. 45, № 2. – P. 246-255.

91. First, M. The effects of reboxetine treatment on depression-like behavior, brain neurotrophins, and erk expression in rats exposed to chronic mild stress [Text] / M.

First, I. Gil-Ad, M. Taler, I. Tarasenko, N. Novak, A. Weizman // *Journal of Molecular Neuroscience*. – 2013. – Vol. 50, № 1. – P. 88-97.

92. Le François, B. Transcriptional regulation at a HTR1A polymorphism associated with mental illness [Text] / B. Le François, M. Czesak, D. Steubl, P.R. Albert // *Neuropharmacology*. – 2008. – Vol. 55, № 6. – P. 977-985.

93. Gałecki, P. The anti-inflammatory mechanism of antidepressants – SSRIs, SNRIs [Text] / P. Gałecki, J. Mossakowska-Wójcik, M. Talarowska // *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry*. – 2018. – Vol. 80, Pt. C. – P. 291-294.

94. Galter, D. Sequential activation of the 5-HT₁(A) serotonin receptor and TrkB induces the serotonergic neuronal phenotype [Text] / D. Galter, K. Unsicker // *Molecular and cellular neurosciences*. – 2000. – Vol. 15, № 5. – P. 446-455.

95. Goldberg, J.F. Preliminary randomized, double-blind, placebo-controlled trial of pramipexole added to mood stabilizers for treatment-resistant bipolar depression [Text] / J.F. Goldberg, K.E. Burdick, C.J. Endick // *American Journal of Psychiatry*. – 2004. – Vol. 161, № 3. – P. 564-566.

96. Goshen, I. Brain interleukin-1 mediates chronic stress-induced depression in mice via adrenocortical activation and hippocampal neurogenesis suppression [Text] / I. Goshen, T. Kreisel, O. Ben-Menachem-Zidon, T. Licht, J. Weidenfeld, T. Ben-Hur, R. Yirmiya // *Molecular Psychiatry*. – 2008. – Vol. 13, № 7. – P. 717-728.

97. Goto, T. Subchronic and mild social defeat stress accelerates food intake and body weight gain with polydipsia-like features in mice [Text] / T. Goto, Y. Kubota, Y. Tanaka, W. Iio, N. Moriya, A. Toyoda // *Behavioural Brain Research*. – 2014. – Vol. 270. – P. 339-348.

98. Gudasheva, T.A. Dimeric dipeptide mimetics of the nerve growth factor Loop 4 and Loop 1 activate TRKA with different patterns of intracellular signal transduction [Text] / T.A. Gudasheva, P.Y. Povarnina, T.A. Antipova, Y.N. Firsova, M.A. Konstantinopolsky, S.B. Seredenin // *Journal of biomedical science*. – 2015. – Vol. 22, № 1. – P. 1-10.

99. Gudasheva, T.A. Mimetics of brain-derived neurotrophic factor loops 1 and 4 are active in a model of ischemic stroke in rats [Text] / T.A. Gudasheva, P. Povarnina,

I.O. Logvinov, T.A. Antipova, S.B. Seredenin // *Drug Design, Development and Therapy*. – 2016. – Vol. 10. – P. 3545-3553.

100. Gudasheva, T.A. Dipeptide Mimetic of the BDNF Loop 4 Possesses Analgetic Activity [Text] / T.A. Gudasheva, M.A. Konstantinopolsky, A.V. Tarasiuk, L.G. Kolik, S.B. Seredenin // *Doklady Biochemistry and Biophysics*. – 2019. – Vol. 485, № 1. – P. 123-125.

101. Gudasheva, T.A. Low-Molecular Weight BDNF Mimetic, Dimeric Dipeptide GSB-106, Reverses Depressive Symptoms in Mouse Chronic Social Defeat Stress [Text] / T.A. Gudasheva, A.V. Tallerova, A.G. Mezhlumyan, T.A. Antipova, I.O. Logvinov, Y.N. Firsova, P.Y. Povarnina, S.B. Seredenin // *Biomolecules*. – 2021. – Vol. 11, № 2. – P. 1-12.

102. Hasler, G. Neural response to catecholamine depletion in unmedicated subjects with major depressive disorder in remission and healthy subjects [Text] / G. Hasler, S. Fromm, P.J. Carlson, D.A. Luckenbaugh, T. Waldeck, M. Geraci, J.P. Roiser, A. Neumeister, N. Meyers, D.S. Charney, W.C. Drevets // *Archives of General Psychiatry*. – 2008. – Vol. 65, № 5. – P. 521-531.

103. Hasler, G. Reward processing after catecholamine depletion in unmedicated, remitted subjects with major depressive disorder [Text] / G. Hasler, D.A. Luckenbaugh, J. Snow, N. Meyers, T. Waldeck, M. Geraci, J. Roiser, B. Knutson, D.S. Charney, W.C. Drevets // *Biological Psychiatry*. – 2009. – Vol. 66, № 3. – P. 201-205.

104. Heckers, S. Two types of cholinergic projections to the rat amygdala [Text] / S. Hecker, M.M. Mesulam // *Neuroscience*. – 1994. – Vol. 60, № 2. – P. 383-397.

105. Hollis, F. Social defeat as an animal model for depression [Text] / F. Hollis, M. Kabbaj // *ILAR journal*. – 2014. – Vol. 55, № 2. – P. 221-232.

106. Holmes, S.E. Lower synaptic density is associated with depression severity and network alterations [Text] / S.E. Holmes, D. Scheinost, S.J. Finnema, M. Naganawa, M.T. Davis, N. DellaGioia, N. Nabulsi, D. Matuskey, G.A. Angarita, R.H. Pietrzak, R.S. Duman, G. Sanacora, J.H. Krystal, R.E. Carson, I. Esterlis // *Nature Communications*. – 2019. – Vol. 10. – P. 1529.

107. Homberg, J.R. The serotonin-BDNF duo: developmental implications for the vulnerability to psychopathology [Text] / J.R. Homberg, R. Molteni, F. Calabrese, M.A. Riva // *Neuroscience and biobehavioral reviews*. – 2014. – Vol. 43. – P. 35-47.

108. Van Hooymissen, J.D. Effects of chronic exercise and imipramine on mRNA for BDNF after olfactory bulbectomy in rat [Text] / J.D. Van Hooymissen, H.O. Chambliss, P.V. Holmes, R.K. Dishman // *Brain Research*. – 2003. – Vol. 974, № 1-2. – P. 228-235.

109. Ibáñez, C.F. Emerging themes in structural biology of neurotrophic factors [Text] / C.F. Ibáñez // *Trends in neurosciences*. – 1998. – Vol. 21, № 10. – P. 438-444.

110. Iio, W. Effects of chronic social defeat stress on MAP kinase cascade / W. Iio, N. Matsukawa, T. Tsukahara, D. Kohari, A. Toyoda // *Neuroscience Letters*. – 2011. – Vol 504, № 3. – P. 281-284.

111. Janssen Pharms Spravato Medication Guide [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.janssenlabels.com/package-insert/product-patient-information/SPRAVATO-medication-guide.pdf>.

112. Kappelmann, N. Antidepressant activity of anti-cytokine treatment: A systematic review and meta-analysis of clinical trials of chronic inflammatory conditions [Text] / N. Kappelmann, G. Lewis, R. Dantzer, P.B. Jones, G.M. Khandaker // *Molecular Psychiatry*. – 2018. – Vol. 23, № 2. – P. 335-343.

113. Karege, F. Neurotrophin levels in postmortem brains of suicide victims and the effects of antemortem diagnosis and psychotropic drugs [Text] / F. Karege, G. Vaudan, M. Schwald, N. Perroud, R. La Harpe // *Molecular Brain Research*. – 2005. – Vol. 136, № 1–2. – P. 29-37.

114. Karege, F. Alteration in kinase activity but not in protein levels of protein kinase B and glycogen synthase kinase-3beta in ventral prefrontal cortex of depressed suicide victims [Text] / F. Karege, N. Perroud, S. Burkhardt, M. Schwald, E. Ballmann, R. La Harpe, A. Malafosse // *Biological Psychiatry*. – 2007. – Vol. 61, № 2. – P. 240-245.

115. Katoh-Semba R. [и др.]. Riluzole enhances expression of brain-derived neurotrophic factor with consequent proliferation of granule precursor cells in the rat

hippocampus. // The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. 2002. № 10 (16). C. 1328–1330.

116. Klimek, V. Reduced levels of norepinephrine transporters in the locus coeruleus in major depression [Text] / V. Klimek, C. Stockmeier, J. Overholser, H.Y. Meltzer, S. Kalka, G. Dilley, G.A. Ordway // Journal of Neuroscience. – 1997. – Vol.17, № 21. – P. 8451-8458.

117. Knapman, A. Increased stress reactivity is associated with cognitive deficits and decreased hippocampal brain-derived neurotrophic factor in a mouse model of affective disorders [Text] / A. Knapman, J.-M. Heinzmann, R. Hellweg, F. Holsboer, R. Landgraf, C. Touma // Journal of Psychiatric Research. – 2010. – Vol. 44, № 9. – P. 566-575.

118. Koh, S.H. The Role of the PI3K Pathway in the Regeneration of the Damaged Brain by Neural Stem Cells after Cerebral Infarction [Text] / S.H. Koh, E.H. // Journal of clinical neurology (Seoul, Korea). – 2015. – Vol.11, № 4. – P. 297-304.

119. Köhler, O. Effect of anti-inflammatory treatment on depression, depressive symptoms, and adverse effects: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials [Text] / O. Köhler, M.E. Benros, M. Nordentoft, M.E. Farkouh, R.L. Iyengar, O. Mors, J. Krogh // JAMA psychiatry. – 2014. – Vol. 71, № 12. – P. 1381-1391.

120. Koike, H. Involvement of AMPA receptor in both the rapid and sustained antidepressant-like effects of ketamine in animal models of depression [Text] / H. Koike, M. Iijima, S. Chaki // Behavioural brain research. – 2011. – Vol. 224, № 1. – P. 107-111.

121. Kolyvanov, G.B. Comparative Preclinical Pharmacokinetics and Bioavailability of Antidepressant GSB-106 Tablet Form [Text] / G.B. Kolyvanov, V.P. Zherdev, O.G. Gribakina, P.O. Bochkov, R.V. Shevchenko, A.A. Litvin, E.V. Blynskaya, V.V. Bueva // Bulletin of experimental biology and medicine. – 2019. – Vol. 167, № 5. – P. 637-640.

122. Koo, J.W. IL-1beta is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress [Text] / J.W. Koo, R.S. Duman // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2008. – Vol. 105, № 2. – P. 751-756.

123. Koponen, E. Enhanced BDNF signaling is associated with an antidepressant-like behavioral response and changes in brain monoamines [Text] / E. Koponen, T. Rantamäki, V. Voikar, T. Saarelainen, E. MacDonald, E. Castrén // *Cellular and Molecular Neurobiology*. – 2005. – Vol. 25, № 6. – P. 973-980.

124. Kovachich, G.B. Effect of chronic administration of antidepressants on α 2-adrenoceptors in the locus coeruleus and its projection fields in rat brain determined by quantitative autoradiography [Text] / G.B. Kovachich, A. Frazer, C.E. Aronson // *Neuropsychopharmacology*. – 1993. – Vol. 8, № 1. – P. 57-65.

125. Krishnan, V. AKT signaling within the ventral tegmental area regulates cellular and behavioral responses to stressful stimuli [Text] / V. Krishnan, M.H. Han, M. Mazei-Robison, S.D. Iñiguez, J.L. Ables, V. Vialou, O. Berton, S. Ghose, H.E. Covington, M.D. Wiley, R.P. Henderson, R.L. Neve, A.J. Eisch, C.A. Tamminga, S.J. Russo, C.A. Bolaños, E.J. Nestler // *Biological psychiatry*. – 2008. – Vol. 64, № 8. – P. 691-700.

126. Kudryavtseva, N.N. An experimental approach for the study of psychotropic drug effects under simulated clinical conditions [Text] / N.N. Kudryavtseva, D.F. Avgustinovich, N.P. Bondar, M.V. Tenditnik, I.L. Kovalenko // *Current Drug Metabolism*. – 2008. – Vol.9, № 4. – P. 352-360.

127. Kwon, S.E. Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons [Text] / S.E. Kwon, E.R. Chapman // *Neuron*. – 2011. – Vol. 70, № 5. – P. 847-854.

128. Lambert, G. Reduced brain norepinephrine and dopamine release in treatment-refractory depressive illness: evidence in support of the catecholamine hypothesis of mood disorders [Text] / G. Lambert, M. Johansson, H. Agren, P. Friberg // *Archives of General Psychiatry*. – 2000. – Vol. 57, № 8. – P. 787-793.

129. Lang, U.E. State of the art of the neurotrophin hypothesis in psychiatric disorders: implications and limitations [Text] / U.E. Lang, M.C. Jockers-Scherübl, R. Hellweg // *Journal of Neural Transmission*. – 2004. – Vol. 111, № 3. – P. 387-411.

130. Lee, B. Baicalin improves chronic corticosterone-induced learning and memory deficits via the enhancement of impaired hippocampal brain-derived

neurotrophic factor and cAMP response element-binding protein expression in the rat [Text] / B. Lee, B. Sur, I. Shim, H. Lee, D.H. Hahm // *Journal of Natural Medicines*. – 2014. – Vol. 68, № 1. – P. 132-143.

131. Leibrock, C. Akt2 deficiency is associated with anxiety and depressive behavior in mice [Text] / C. Leibrock, T.F. Ackermann, M. Hierlmeier, F. Lang, S. Borgwardt, U.E. Lang // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2013. – Vol. 32, № 3. – P. 766-777.

132. Lepack, A.E. Fast-acting antidepressants rapidly stimulate ERK signaling and BDNF release in primary neuronal cultures [Text] / A.E. Lepack, E. Bang, B. Lee, J.M. Dwyer, R.S. Duman // *Neuropharmacology*. – 2016. – Vol. 111. – P. 242-252.

133. Levi-Montalcini, R. Nerve growth factor: from neurotrophin to neurokinine [Text] / R. Levi-Montalcini, S.D. Skaper, R. Dal Toso, L. Petrelli, A. Leon // *Trends in Neurosciences*. – 1996. – Vol. 19, № 11. – P. 514-520.

134. Levi-Montalcini, R. Selective growth stimulating effects of mouse sarcoma on the sensory and sympathetic nervous system of the chick embryo [Text] / R. Levi-Montalcini, V. Hamburger // *Journal of Experimental Zoology*. – 1951. – Vol. 116, № 2. – P. 321-361.

135. Li, N. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists [Text] / N. Li, B. Lee, R.J. Liu, M. Banasr, J.M. Dwyer, M. Iwata, X.Y. Li, G. Aghajanian, R.S. Duman // *Science*. – 2010. – Vol. 329, № 5994. – P. 959-965.

136. Li, N. Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure [Text] / N. Li, R.J. Liu, J.M. Dwyer, M. Banasr, B. Lee, H. Son, X.Y. Li, G. Aghajanian, R.S. Duman // *Biological Psychiatry*. – 2011. – Vol. 89, № 8. – P. 754-761.

137. Li, Y. TrkB regulates hippocampal neurogenesis and governs sensitivity to antidepressive treatment [Text] / Y. Li, B.W. Luikart, S. Birnbaum, J. Chen, C.H. Kwon, S.G. Kernie, R. Bassel-Duby, L.F. Parada // *Neuron*. – 2008. – Vol. 59, № 3. – P. 399-412.

138. Liu, C. 7,8-dihydroxyflavone, a small molecular TrkB agonist, is useful for treating various BDNF-implicated human disorders [Text] / C. Liu, C.B. Chan, K. Ye // *Translational Neurodegeneration*. – 2016. – Vol. 5, № 1 – P. 1-9.

139. Liu, J. Therapeutic time window for the neuroprotective effects of NGF when administered after focal cerebral ischemia [Text] / J.P. Yang, H.J. Liu, H. Yang, P.Y. Feng // *Neurological sciences : official journal of the Italian Neurological Society and of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*. – 2011. – Vol. 32, № 3. – P. 433-441.

140. Liu, M.Y. Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice [Text] / M.Y. Liu, C.Y. Yin, L.J. Zhu, X.H. Zhu, C. Xu, C.X. Luo, H. Chen, D.Y. Zhu, Q.G. Zhou // *Nature Protocols*. – 2018. – Vol.13, № 7. – P. 1686-1698.

141. Liu, X. Optimization of a small tropomyosin-related kinase B (TrkB) agonist 7,8-dihydroxyflavone active in mouse models of depression [Text] / X. Liu, C.B. Chan, Q. Qi, G. Xiao, H.R. Luo, X. He, K. Ye // *Journal of medicinal chemistry*. – 2012. – Vol. 55, № 19. – P. 8524-8537.

142. Liu, X. Biochemical and biophysical investigation of the brain-derived neurotrophic factor mimetic 7,8-dihydroxyflavone in the binding and activation of the TrkB receptor [Text] / X. Liu, O. Obianyo, C.B. Chan, J. Huang, S. Xue, J.J. Yang, F. Zeng, M. Goodman, K. Ye // *The Journal of biological chemistry*. – 2014. – Vol. 289, № 40. – P. 27571-27584.

143. Liu, X.L. Fluoxetine regulates mTOR signalling in a region-dependent manner in depression-like mice [Text] / X.L. Liu, L. Luo, R.H. Mu, B.B. Liu, D. Geng, Q. Liu, L.T. Yi // *Scientific Reports*. – 2015. – Vol. 5, № 16024. – P. 1-11.

144. Lyons, W.E. Brain-derived neurotrophic factor-deficient mice develop aggressiveness and hyperphagia in conjunction with brain serotonergic abnormalities [Text] / W.E. Lyons, L.A. Mamounas, G.A. Ricaurte, V. Coppola, S.W. Reid, S.H. Bora, C. Wihler, V.E. Koliatsos, L. Tessarollo // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1999. – Vol. 96, № 26. – P. 15239-15244.

145. Ma, X.-C. Long-lasting antidepressant action of ketamine, but not glycogen synthase kinase-3 inhibitor SB216763, in the chronic mild stress model of mice [Test] /

X.-C. Ma, Y.-H. Dang, M. Jia, R. Ma, F. Wang, J. Wu, C.-G. Gao, K. Hashimoto // *PloS one*. – 2013. – Vol. 8, № 2. – P. e56053.

146. Macqueen, G.M. Posterior hippocampal volumes are associated with remission rates in patients with major depressive disorder [Text] / G.M. MacQueen, K. Yucel, V.H. Taylor, K. Macdonald, R. Joffe // *Biological psychiatry*. – 2008. – Vol. 64, № 10. – P. 880-883.

147. Maeng, S. Cellular mechanisms underlying the antidepressant effects of ketamine: role of alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid receptors [Text] / S. Maeng, C.A. Zarate Jr, J. Du, R.J. Schloesser, J. McCammon, G. Chen, H.K. Manji // *Biological psychiatry*. – 2008. – Vol. 63, № 4. – P. 349-352.

148. Mahgoub, M.A. Reciprocal interaction of serotonin and neuronal activity in regulation of cAMP-responsive element-dependent gene expression [Text] / M.A. Mahgoub, Y. Sara, E.T. Kavalali, L.M. Monteggia // *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. – 2006. – Vol. 317, № 1. – P. 88-96.

149. Mahmood, T. Western blot: technique, theory, and trouble shooting [Text] / T. Mahmood, P.-C. Yang // *North American journal of medical sciences*. – 2012. – Vol. 4, № 9. – P. 429-434.

150. Malberg, J.E. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus [Text] / J.E. Malberg, A.J. Eisch, E.J. Nestler, R.S. Duman // *Journal of Neuroscience*. – 2000. – Vol. 20, № 24. – P. 9104-9110.

151. Malhi, G.S. Depression [Text] / G.S. Malhi, J.J. Mann // *The Lancet*. – 2018. – Vol. 392, № 10161. – P. 2299-2312.

152. Martino, M. NGF serum levels variations in major depressed patients receiving duloxetine [Text] / M. Martino, G. Rocchi, A. Escelsior, P. Contini, S. Colicchio, D. de Berardis, M. Amore, P. Fornaro, M. Fornaro // *Psychoneuroendocrinology*. – 2013. – Vol. 38, № 9. – P. 1824-1828.

153. McEwen, B.S. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain [Text] / B.S. McEwen // *Physiological Reviews*. – 2007. – Vol. 87, № 3. – P. 873-904.

154. Michaelis, T. Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine [Text] / B. Czéh, T. Michaelis, T. Watanabe, J. Frahm, G. de Biurrun, M. van Kampen, A. Bartolomucci, E. Fuchs // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2001. – Vol. 98, № 22. – P. 12796-12801.

155. Molteni, R. Reduced function of the serotonin transporter is associated with decreased expression of BDNF in rodents as well as in humans [Text] / R. Molteni, A. Cattaneo, F. Calabrese, F. Macchi, J.D.A. Olivier, G. Racagni, B.A. Ellenbroek, M. Gennarelli, M.A. Riva // Neurobiology of disease. – 2010. – Vol. 37, № 3. – P. 747-755.

156. Mondal, A.C. Direct and indirect evidences of BDNF and NGF as key modulators in depression: role of antidepressants treatment [Text] / A.C. Mondal, M. Fatima // International Journal of Neuroscience. – 2019. – Vol. 129, № 3. – P. 283-296.

157. Monteggia, L.M. Essential role of brain-derived neurotrophic factor in adult hippocampal function [Text] / L.M. Monteggia, M. Barrot, C.M. Powell, O. Berton, V. Galanis, T. Gemelli, S. Meuth, A. Nagy, R.W. Greene, E.J. Nestler // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2004. – Vol. 101, № 29. – P. 10827-10832.

158. Moskal, J.R. GLYX-13: a monoclonal antibody-derived peptide that acts as an N-methyl-D-aspartate receptor modulator [Text] / J.R. Moskal, A.G. Kuo, C. Weiss, P.L. Wood, A. O'Connor Hanson, S. Kelso, R.B. Harris, J.F. Disterhoft // Neuropharmacology. – 2005. – Vol.49, № 7. – P. 1077-1087.

159. Mössner, R. Serotonin transporter function is modulated by brain-derived neurotrophic factor (BDNF) but not nerve growth factor (NGF) [Text] / R. Mössner, S. Daniel, D. Albert, A. Heils, O. Okladnova, A. Schmitt, K.P. Lesch // Neurochemistry International. – 2000. – Vol. 36, № 3. – P. 197-202.

160. Murphy, F.C. Neuropsychological impairment in patients with major depressive disorder: the effects of feedback on task performance [Text] / F.C. Murphy, A. Michael, T.W. Robbins, B.J. Sahakian // Psychological Medicine. – 2003. – Vol. 33, № 3. – P. 455-467.

161. Nair, A. Cyclic AMP response element binding protein and brain-derived neurotrophic factor: molecules that modulate our mood? [Text] / A. Nair, V.A. Vaidya // *Journal of Biosciences*. – 2006. – Vol. 31, № 3. – P. 423-434.

162. Naumenko, V.S. Effect of brain-derived neurotrophic factor on behavior and key members of the brain serotonin system in genetically predisposed to behavioral disorders mouse strains [Text] / V.S. Naumenko, E.M. Kondaurova, D.V. Bazovkina, A.S. Tsybko, M.A. Tikhonova, A.V. Kulikov, N.K. Popova // *Neuroscience*. – 2012. – Vol. 214. – P. 59-67.

163. Nestler, E.J. Chronic antidepressant administration decreases the expression of tyrosine hydroxylase in the rat locus coeruleus [Text] / E.J. Nestler, A. McMahon, E.L. Sabban, J.F. Tallman, R.S. Duman // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1990. – Vol. 87, № 19. – P. 7522-7526.

164. Neumeister, A. Neural and behavioral responses to tryptophan depletion in unmedicated patients with remitted major depressive disorder and controls [Text] / A. Neumeister, A.C. Nugent, T. Waldeck, M. Geraci, M. Schwarz, O. Bonne, E.E. Bain, D.A. Luckenbaugh, P. Herscovitch, D.S. Charney, W.C. Drevets // *Archives of General Psychiatry*. – 2004. – Vol. 61, № 8. – P. 765-773.

165. Niewiadomska, G. The cholinergic system, nerve growth factor and the cytoskeleton [Text] / G. Niewiadomska, A. Mietelska-Porowska, M. Mazurkiewicz // *Behavioural Brain Research*. – 2011. – Vol. 221, № 2. – P. 515-526.

166. Nockher, W.A. Neurotrophins and asthma: novel insight into neuroimmune interaction [Text] / W.A. Nockher, H. Renz // *The Journal of allergy and clinical immunology*. – 2006. – Vol. 117, № 1. – P. 67-71.

167. Notaras, M. The BDNF gene Val66Met polymorphism as a modifier of psychiatric disorder susceptibility: progress and controversy [Text] / M. Notaras, R. Hill, M. van den Buuse // *Molecular Psychiatry*. – 2015. – Vol. 20, № 8. – P. 916-930.

168. O'Connor, J.C. Lipopolysaccharide-induced depressive-like behavior is mediated by indoleamine 2,3-dioxygenase activation in mice [Text] / J.C. O'Connor, M.A. Lawson, C. André, M. Moreau, J. Lestage, N. Castanon, K.W. Kelley, R. Dantzer // *Molecular Psychiatry*. – 2009. – Vol. 14, № 5. – P. 511-522.

169. Obata, K. MAPK activation in nociceptive neurons and pain hypersensitivity [Text] / K. Obata, K. Noguchi // *Life sciences*. – 2004. – Vol. 74, № 21. – P. 2643-2653.
170. Ordway, G.A. Elevated agonist binding to α 2-adrenoceptors in the locus coeruleus in major depression [Text] / G.A. Ordway, J. Schenk, C.A. Stockmeier, W. May, V. Klimek // *Biological Psychiatry*. – 2003. – Vol. 53, № 4. – P. 315-323.
171. Overstreet, D.H. Nerve growth factor (NGF) has novel antidepressant-like properties in rats [Text] / D.H. Overstreet, K. Fredericks, D. Knapp, G. Breese, J. McMichael // *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. – 2010. – Vol. 94, № 4. – P. 553-560.
172. Pace, T.W.W. Increased stress-induced inflammatory responses in male patients with major depression and increased early life stress [Text] / T.W.W. Pace, T.C. Mletzko, O. Alagbe, D.L. Musselman, C.B. Nemeroff, A.H. Miller, C.M. Heim // *The American journal of psychiatry*. – 2006. – Vol. 163, № 9. – P. 1630-1633.
173. Park, S.W. p11 mediates the BDNF-protective effects in dendritic outgrowth and spine formation in B27-deprived primary hippocampal cells [Text] / S.W. Park, L.H. Nhu, H.Y. Cho, M.K. Seo, C.H. Lee, N.N. Ly, C.M. Choi, B.J. Lee, G.-M. Kim, W. Seol, J.G. Lee, Y.H. Kim // *Journal of Affective Disorders*. – 2016. – Vol. 196. – P. 1-10.
174. Pietranera, L. Involvement of brain-derived neurotrophic factor and neurogenesis in oestradiol neuroprotection of the hippocampus of hypertensive rats [Text] / L. Pietranera, A. Lima, P. Roig, A.F. De Nicola // *Journal of Neuroendocrinology*. – 2010. – Vol. 22, № 10. – P. 1082-1092.
175. Pittenger, C. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms [Text] / C. Pittenger, R.S. Duman // *Neuropsychopharmacology*. – 2008. – Vol. 33, № 1. – P. 88-109.
176. Pompili, M. Antidepressants and Suicide Risk: A Comprehensive Overview [Text] / M. Pompili, G. Serafini, M. Innamorati, E. Ambrosi, G. Giordano, P. Girardi, R. Tatarelli, D. Lester // *Pharmaceuticals*. – 2010. – Vol. 3, № 9. – P. 2861-2883.
177. Porsolt, R.D. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants [Text] / R.D. Porsolt, A. Bertin, M. Jalfre // *Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie*. – 1977. – Vol. 229, № 2. – P. 327-336.

178. Porsolt, R.D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments [Text] / R.D. Porsolt, M. Le Pichon, M. Jalfre // *Nature*. – 1977. – Vol. 266, № 5604. – P. 730-732.

179. Povarnina, P. The BDNF Loop 4 Dipeptide Mimetic Bis(N-monosuccinyl-L-seryl-L-lysine)hexamethylenediamide Is Active in a Depression Model in Mice after Acute Oral Administration [Text] / P. Povarnina, Y.N. Firsova, A.V. Tallerova, A.G. Mezhlumyan, S.V. Kruglov, T.A. Antipova, T.A. Gudasheva, S.B. Seredenin // *Antidepressants - Preclinical, Clinical and Translational Aspects*. – 2019. – P. 1-10.

180. Povarnina, P.Y. Comparison of the Pharmacological Effects of Dimeric Dipeptide Nerve Growth Factor Mimetic GK-2 and Mexidol on the Model of Ischemic Stroke in Rats [Text] / P.Yu. Povarnina, A.A. Volkova, T.A. Gudasheva, S.B. Seredenin // *Bulletin of experimental biology and medicine*. – 2017. – Vol. 164, № 2. – P. 173-176.

181. Povarnina, P.Y. Antidepressant Effect of an Orally Administered Dipeptide Mimetic of the Brain-Derived Neurotrophic Factor [Text] / P.Y. Povarnina, T.L. Garibova, T.A. Gudasheva, S.B. Seredenin // *Acta Naturae*. – 2018. – Vol. 10, № 3. – P. 81-84.

182. Preskorn, S. Randomized proof of concept trial of GLYX-13, an N-methyl-D-aspartate receptor glycine site partial agonist, in major depressive disorder nonresponsive to a previous antidepressant agent [Text] / S. Preskorn, M. Macaluso, D.O. Vishaal Mehra, G. Zammit, J.R. Moskal, R.M. Burch, GLYX-13 Clinical Study Group // *Journal of psychiatric practice*. – 2015. – Vol. 21, № 2. – P. 140-149.

183. Qi, X. A role for the extracellular signal-regulated kinase signal pathway in depressive-like behavior [Text] / X. Qi, W. Lin, D. Wang, Y. Pan, W. Wang, M. Sun // *Behavioural Brain Research*. – 2009. – Vol. 199, № 2. – P. 203-209.

184. Ramachandrai, C.T. Antidepressants: From MAOIs to SSRIs and more [Text] / C.T. Ramachandrai, N. Subramanyam, K.J. Bar, G. Baker, V.K. Yeragani // *Indian journal of psychiatry*. – 2011. – Vol. 53, № 2. – P. 180-182.

185. Rantamäki, T. Pharmacologically diverse antidepressants rapidly activate brain-derived neurotrophic factor receptor TrkB and induce phospholipase-Cgamma signaling pathways in mouse brain [Text] / T. Rantamäki, P. Hendolin, A. Kankaanpää,

J. Mijatovic, P. Piepponen, E. Domenici, M.V. Chao, P.T. Männistö, E. Castrén // *Neuropsychopharmacology*. – 2007. – Vol. 32, № 10. – P. 2152-2162.

186. Reichardt, L.F. Neurotrophin-regulated signalling pathways [Text] / L.F. Reichardt // *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*. – 2006. – Vol. 361, № 1473. – P. 1545-1564.

187. Remus, J.L. Inflammation Models of Depression in Rodents: Relevance to Psychotropic Drug Discovery [Text] / J.R. Remus, R. Dantzer // *International Journal of Neuropsychopharmacology*. – 2016. – Vol. 19, № 9. – pyw028.

188. Ren, X. Cyclic-AMP response element binding protein (CREB) in the neutrophils of depressed patients [Text] / X. Ren, Y. Dwivedi, A.C. Mondal, G.N. Pandey // *Psychiatry Research*. – 2011. – Vol.185, № 1. – P. 108-112.

189. Réus, G.Z. Imipramine reverses alterations in cytokines and BDNF levels induced by maternal deprivation in adult rats [Text] / G.Z. Réus, M.A. Dos Santos, H.M. Abelaira, K.F. Ribeiro, F. Petronilho, F. Vuolo, G.D. Colpo, B. Pfaffenseller, F. Kapczinski, F. Dal-Pizzol, J. Quevedo // *Behavioural Brain Research*. – 2013. – Vol. 242, № 1. – P. 40-46.

190. Richthofen, S. Effects of different kinds of acute stress on nerve growth factor content in rat brain [Text] / S. Richthofen, U.E. Lang, R. Hellweg // *Brain Research*. – 2003. – Vol. 987, № 2. – P. 207-213.

191. Della Rocca, G.J. Serotonin 5-HT(1A) receptor-mediated Erk activation requires calcium/calmodulin-dependent receptor endocytosis [Text] / G.J. Della Rocca, Y.V. Mukhin, M.N. Garnovskaya, Y. Daaka, G.J. Clark, L.M. Luttrell, R.J. Lefkowitz, J.R. Raymond // *Journal of Biological Chemistry*. – 1999. – Vol. 274, № 8. – P. 4749-4753.

192. Sairanen, M. Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant drugs have different but coordinated effects on neuronal turnover, proliferation, and survival in the adult dentate gyrus [Text] / M. Sairanen, G. Lucas, P. Ernfors, M. Castrén, E. Castrén // *Journal of Neuroscience*. – 2005. – Vol. 25, № 5. – P. 1089-1094.

193. Sallinen, J. Genetic alteration of the α 2-adrenoceptor subtype c in mice affects the development of behavioral despair and stress-induced increases in plasma

corticosterone levels [Text] / J. Sallinen, A. Haapalinna, E. MacDonald, T. Viitamaa, J. Lähdesmäki, E. Rybnikova, M. Peltto-Huikko, B.K. Kobilka, M. Scheinin // *Molecular Psychiatry*. – 1999. – Vol. 4, № 5. – P. 443-452.

194. Santamaria, J. Parkinson's disease with depression: A possible subgroup of idiopathic parkinsonism [Text] / J. Santamaría, E. Tolosa, A. Valles // *Neurology*. – 1986. – Vol. 36, № 8. – P. 1130-1133.

195. Santarelli, L. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants [Text] / L. Santarelli, M. Saxe, C. Gross, A. Surget, F. Battaglia, S. Dulawa, N. Weisstaub, J. Lee, R. Duman, O. Arancio, C. Belzung, R. Hen // *Science*. – 2003. – Vol. 301, № 5634. – P. 805-809.

196. Sarbassov, D.D. Growing roles for the mTOR pathway [Text] / D.D. Sarbassov, S.M. Ali, D.M. Sabatini // *Current Opinion in Cell Biology*. – 2005. – Vol. 17, № 6. – P. 596-603.

197. Schramm, N.L. The alpha(2a)-adrenergic receptor plays a protective role in mouse behavioral models of depression and anxiety [Text] / N.L. Schramm, M.P. McDonald, L.E. Limbird // *Journal of Neuroscience*. – 2001. – Vol. 13, № 13. – P. 4875-4882.

198. Schulte-herbrüggen, O. Differential regulation of nerve growth factor and brain-derived neurotrophic factor in a mouse model of learned helplessness [Text] / O. Schulte-Herbrüggen, S. Chourbaji, H. Müller, H. Danker-Hopfe, C. Brandwein, P. Gass, R. Hellweg // *Experimental neurology*. – 2006. – Vol. 202, № 2. – P. 404-409.

199. Shansky, R.M. Stress-induced dendritic remodeling in the medial prefrontal cortex: effects of circuit, hormones and rest [Text] / R.M. Shansky, J.H. Morrison // *Brain Research*. – 2009. – Vol. 1293. – P. 108-113.

200. Shirayama, Y. Brain-derived neurotrophic factor produces antidepressant effects in behavioral models of depression [Text] / Y. Shirayama, A.C.-H. Chen, S. Nakagawa, D.S. Russell, R.S. Duman // *Journal of Neuroscience*. – 2002. – Vol. 22, № 8. – P. 3251-3261.

201. Singh, J.B. Intravenous Esketamine in Adult Treatment-Resistant Depression: A Double-Blind, Double-Randomization, Placebo-Controlled Study [Text]

/ J.B. Singh, M. Fedgchin, E. Daly, L. Xi, C. Melman, G. De Bruecker, A. Tadic, P. Sienaert, F. Wiegand, H. Manji, W.C. Drevets, L. Van Nueten // *Biological psychiatry*. – 2016. – Vol. 80, № 6. – P. 424-431.

202. Siuciak, J.A. BDNF increases monoaminergic activity in rat brain following intracerebroventricular or intraparenchymal administration [Text] / J.A. Siuciak, C. Boylan, M. Fritsche, C.A. Altar, R.M. Lindsay // *Brain research*. – 1996. – Vol. 710, № 1–2. – P. 11-20.

203. Siuciak, J.A. Antidepressant-like effect of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) [Text] / J.A. Siuciak, D.R. Lewis, S.J. Wiegand, R.M. Lindsay // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 1997. – Vol. 56, № 1. – P. 131-137.

204. Skaper, S.D. The biology of neurotrophins, signalling pathways, and functional peptide mimetics of neurotrophins and their receptors [Text] / S.D. Skaper // *CNS & neurological disorders drug targets*. – 2008. – Vol. 7, № 1. – P. 46-62.

205. Sobrian, S.K. Prenatal cocaine and/or nicotine exposure produces depression and anxiety in aging rats [Text] / S.K. Sobrian, L. Marr, K. Ressler // *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. – 2003. – Vol. 27, № 3. – P. 501-518.

206. Song, C. Increased phospholipase A2 activity and inflammatory response but decreased nerve growth factor expression in the olfactory bulbectomized rat model of depression: effects of chronic ethyl-eicosapentaenoate treatment [Text] / C. Song, X.Y. Zhang, M. Manku // *Journal of Neuroscience*. – 2009. – Vol. 29, № 1. – P. 14-22.

207. Szapacs, M.E. Exploring the relationship between serotonin and brain-derived neurotrophic factor: analysis of BDNF protein and extraneuronal 5-HT in mice with reduced serotonin transporter or BDNF expression [Text] / M.E. Szapacs, T.A. Mathews, L. Tessarollo, W.E. Lyons, L.A. Mamounas, A.M. Andrews // *Journal of Neuroscience Methods*. – 2004. – Vol. 140, № 1-2. – P. 81-92.

208. Takano, K. Imipramine induces brain-derived neurotrophic factor mRNA expression in cultured astrocytes [Text] / K. Takano, H. Yamasaki, K. Kawabe, M. Moriyama, Y. Nakamura // *Journal of Pharmacological Sciences*. – 2012. – Vol. 120, № 3. – P. 176-186.

209. Taliuz, D. Knockdown of brain-derived neurotrophic factor in specific brain sites precipitates behaviors associated with depression and reduces neurogenesis [Text] / D. Taliuz, N. Stall, D.E. Dar, A. Zangen // *Molecular Psychiatry*. – 2010. – Vol. 15, № 1. – P. 80-92.

210. Thase, M.E. Are SNRIs more effective than SSRIs? A review of the current state of the controversy [Text] / M.E. Thase // *Psychopharmacology bulletin*. – 2008. – Vol. 41, № 2. – P. 58-85.

211. Thiele, C.J. On Trk--the TrkB signal transduction pathway is an increasingly important target in cancer biology [Text] / C.J. Thiele, Z. Li, A.E. McKee // *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*. – 2009. – Vol. 15, № 19. – P. 5962-5967.

212. Thomas, A.J. Increase in interleukin-1beta in late-life depression [Text] / A.J. Thomas, S. Davis, C. Morris, E. Jackson, R. Harrison, J.T. O'Brien // *The American journal of psychiatry*. – 2005. – Vol. 162, № 1. – P. 175-177.

213. Tiraboschi, E. Selective phosphorylation of nuclear CREB by fluoxetine is linked to activation of CaM kinase IV and MAP kinase cascades [Text] / E. Tiraboschi, D. Tardito, J. Kasahara, S. Moraschi, P. Pruneri, M. Gennarelli, G. Racagni, M. Popoli // *Neuropsychopharmacology*. – 2004. – Vol. 29, № 10. – P. 1831-1840.

214. Tirasa, P. The nerve growth factor administrated as eye drops activates mature and precursor cells in subventricular zone of adult rats [Text] / P. Tirassa // *Archives Italiennes de Biologie*. – 2011. – Vol. 149, № 2. – P. 205-213.

215. U.S. Food and Drug Administration New Drug Therapy Approvals 2019 [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.fda.gov/drugs/new-drugs-fda-cders-new-molecular-entities-and-new-therapeutic-biological-products/new-drug-therapy-approvals-2019>.

216. Ueyama, T. Immobilization stress reduced the expression of neurotrophins and their receptors in the rat brain [Text] / T. Ueyama, Y. Kawai, K. Nemoto, M. Sekimoto, S. Toné, E. Senba // *Neuroscience Research*. – 1997. – Vol. 28, № 2. – P. 103-110.

217. Vesa, L. Antidepressant drugs transactivate TrkB neurotrophin receptors in the adult rodent brain independently of BDNF and monoamine transporter blockade [Text] / T. Rantamäki, L. Vesa, H. Antila, A. Di Lieto, P. Tammela, A. Schmitt, K.P. Lesch, M. Rios, E. Castrén // *PloS one.* – 2011. – Vol. 6, № 6. – P. e20567.

218. Vilar, M. Structural Characterization of the p75 Neurotrophin Receptor : A Stranger in the TNFR Superfamily [Text] / M. Vilar // *Vitamins and hormones.* – 2017. – Vol. 104. – P. 57-87.

219. Watanabe, N. Mirtazapine versus other antidepressive agents for depression [Text] / N. Watanabe, I.M. Omori, A. Nakagawa, A. Cipriani, C. Barbui, R. Churchill, T.A. Furukawa // *Cochrane Database of Systematic Reviews.* – 2011. – № 12. – P. CD006528.

220. Wiesmann, C. Nerve growth factor : structure and function [Text] / C. Wiesmann, A.M. de Vos // *Cellular and molecular life sciences : CMLS.* – 2001. – Vol. 58, № 5-6. – P. 748-759.

221. Willner, P. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant [Text] / P. Willner, A. Towell, D. Sampson, S. Sophokleous, R. Muscat // *Psychopharmacology.* – 1987. – Vol. 93, № 3. – P. 358-364.

222. Willner, P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS [Text] / P. Willner // *Neuropsychobiology.* – 2005. – Vol. 52, № 2. – P. 90-110.

223. Wu, C.-H. Post-injury treatment with 7,8-dihydroxyflavone, a TrkB receptor agonist, protects against experimental traumatic brain injury via PI3K/Akt signaling [Text] / C.-H. Wu, T.-H. Hung, C.-C. Chen, C.-H. Ke, C.-Y. Lee, P.-Y. Wang, S.-F. Chen // *PloS one.* – 2014. – Vol. 9, № 11. – P. e113397.

224. Xia, Z. Tricyclic antidepressants inhibit IL-6, IL-1 beta and TNF-alpha release in human blood monocytes and IL-2 and interferon-gamma in T cells [Text] / Z. Xia, J.W. DePierre, L. Nässberger // *Immunopharmacology.* – 1996. – Vol. 34, № 1. – P. 27-37.

225. Xiong, P. The role of NGF and IL-2 serum level in assisting the diagnosis in first episode schizophrenia [Text] / P. Xiong, Y. Zeng, J. Wan, D.H. Xiaohan, D. Tan, J. Lu, F. Xu, H.Y. Li, X. Zhu, M. Ma // *Psychiatry research*. – 2011. – Vol. 189, № 1. – P. 72-76.

226. Yang, B. Comparison of R-ketamine and rapastinel antidepressant effects in the social defeat stress model of depression [Text] / B. Yang, J.-C. Zhang, M. Han, W. Yao, C. Yang, Q. Ren, M. Ma, Q.-X. Chen, K. Hashimoto // *Psychopharmacology*. – 2016. – Vol. 233, № 19–20. – P. 3647-3657.

227. Yang, B.K. Sustained antidepressant action of the n-methyl-D-aspartate receptor antagonist MK-801 in a chronic unpredictable mild stress model [Text] / B.-K. Yang, J. Qin, Y. Nie, J.-C. Chen // *Experimental and Therapeutic Medicine*. – 2018. – Vol. 16, № 6. – P. 5376-5383.

228. Yang, C. Acute administration of ketamine in rats increases hippocampal BDNF and mTOR levels during forced swimming test [Text] / C. Yang, Y.-M. Hu, Z.-Q. Zhou, G.-F. Zhang, J.-J. Yang // *Upsala journal of medical sciences*. – 2013. – Vol. 118, № 1. – P. 3-8.

229. Yankelevitch-Yahav, R. The forced swim test as a model of depressive-like behavior [Text] / R. Yankelevitch-Yahav, M. Franko, A. Huly, R. Doron // *Journal of Visualized Experiments*. – 2015. – № 97. – P. 1-7.

230. Yashiro, S. Association of social defeat stress-induced anhedonia-like symptoms with mGluR1-dependent decrease in membrane-bound AMPA-GluR1 in the mouse ventral midbrain [Text] / S. Yashiro, K. Seki // *Stress*. – 2017. – Vol. 20, № 4. – P. 404-418.

231. Yu, J.S.L. Proliferation, survival and metabolism: the role of PI3K/AKT/mTOR signalling in pluripotency and cell fate determination [Text] / J.S.L. Yu, W. Cui // *Development (Cambridge, England)*. – 2016. – Vol. 143, № 17. – P. 3050-3060.

232. Zarate, C.A.J. Replication of ketamine's antidepressant efficacy in bipolar depression: a randomized controlled add-on trial [Text] / C.A. Zarate Jr., N.E. Brutsche, L. Ibrahim, J. Franco-Chaves, N. Diazgranados, A. Cravchik, J. Selter, C.A. Marquardt,

V. Liberty, D.A. Luckenbaugh // *Biological psychiatry*. – 2012. – Vol. 71, № 11. – P. 939-946.

233. Zhang, H.T. Immunohistochemical distribution of NGF, BDNF, NT-3, and NT-4 in adult rhesus monkey brains [Text] / H.-T. Zhang, L.-Y. Li, X.-L. Zou, X.-B. Song, Y.-L. Hu, Z.-T. Feng, T.T.-H. Wang // *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. – 2007. – Vol. 55, № 1. – P. 1-19.

234. Zhang, J. CREB-mediated synaptogenesis and neurogenesis is crucial for the role of 5-HT1a receptors in modulating anxiety behaviors [Text] / J. Zhang, C.-Y. Cai, H.-Y. Wu, L.-J. Zhu, C.-X. Luo, D.-Y. Zhu // *Scientific Reports*. – 2016. – Vol. 6, № 1. – P. 29551.

235. Zhang, J.C. Antidepressant effects of TrkB ligands on depression-like behavior and dendritic changes in mice after inflammation [Text] / J.C. Zhang, J. Wu, Y. Fujita, W. Yao, Q. Ren, C. Yang, S. Li, Y. Shirayama, K. Hashimoto // *International Journal of Neuropsychopharmacology*. – 2014. – Vol. 18, № 4. – P. 1--12.

236. Zhang, J.C. Comparison of ketamine, 7,8-dihydroxyflavone, and ANA-12 antidepressant effects in the social defeat stress model of depression [Text] / J.C. Zhang, W. Yao, C. Dong, C. Yang, Q. Ren, M. Ma, M. Han, K. Hashimoto // *Psychopharmacology*. – 2015. – Vol. 232, № 23. – P. 4325-4335.

237. Zhang, M.W. 7,8-Dihydroxyflavone reverses the depressive symptoms in mouse chronic mild stress [Text] / M.-W. Zhang, S.-F. Zhang, Z.-H. Li, F. Han // *Neuroscience Letters*. – 2016. – Vol. 635. – P. 33-38.

238. Zhu, M.Y. Elevated levels of tyrosine hydroxylase in the locus coeruleus in major depression [Text] / M.Y. Zhu, V. Klimek, G.E. Dilley, J.W. Haycock, C. Stockmeier, J.C. Overholser, H.Y. Meltzer, G.A. Ordway // *Biological Psychiatry*. – 1999. – Vol. 46, № 9. – P. 1275-1286.