

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092

Алилуев А.В.¹, Семенова Л.Ю.², Порядин Г.В.², Манухина Е.Б.³⁻⁵, Дауни Г.Ф.^{4,5}, Горячева А.В.³, Мальцева Н.В.^{5,6}, Шемяков С.Е.², Карпенко М.Н.⁷, Пестерева Н.С.⁷, Кондашевская М.В.⁸, Цейликман В.Э.^{5,6}

Влияние адаптации к периодической гипоксии на обмен серотонина и показатели окислительного стресса в гиппокампе крыс при экспериментальном посттравматическом стрессовом расстройстве

¹ГБУЗ «Областной психоневрологический диспансер»,

456304, Челябинская область, г. Миасс, Россия, Гвардейская ул., д. 2;

²ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117997, Москва, Россия, ул. Островитянова, д. 1;

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», 125315, Москва, Россия, ул. Балтийская, д. 8;

⁴Отдел физиологии и анатомии, Центр медицинских наук Университета Северного Техаса, Форт-Уэрт, США, 76710, Бульвар Кэмп Боуи, 3500;

⁵ФГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный университет (Национальный исследовательский университет)», 454080, Челябинск, Россия, просп. им. В.И. Ленина, д. 76;

⁶ФГБОУ ВО «Челябинский государственный университет», 454001, Челябинск, Россия, ул. Братьев Кашириных, д. 129;

⁷ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197376, Санкт-Петербург, Россия, ул. Академика Павлова, д. 12;

⁸ФГБНУ «Научно-исследовательский институт морфологии человека», 117418, Москва, Россия, ул. Цюрупы, д. 3

Введение. Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) формируется спустя длительный срок после переживания психической травмы. Имеются данные о низком уровне серотонина у больных ПТСР, который часто сочетается с окислительным стрессом, обусловленным нейровоспалением. Представляется актуальным поиск эффективных средств немедикаментозной коррекции ПТСР. Одним из высокоэффективных и наиболее широко используемых методов является адаптация к периодической гипоксии (АПГ).

Цель работы – исследование влияния АПГ на обмен серотонина и показатели окислительного стресса в гиппокампе животных при экспериментальном ПТСР.

Методика. Исследование выполнено на 34 половозрелых самцах крыс Вистар, которые были разделены на 4 группы («Контроль», «ПТСР», «АПГ», «ПТСР+АПГ»). В качестве модели экспериментального ПТСР была использована модель хронического предаторного стресса, где животные подвергались «запаху хищника» (кошачьей мочи) по 10 мин в течение 10 сут. После этого крыс адаптировали к периодической гипоксии в гипобарической барокамере в течение 14 сут, начиная с 30 мин в 1-е сут на симулированной высоте 1000 м, с постепенным увеличением «высоты» и времени экспозиции до 4000 м в течение 4 ч на 5-е сут и в последующие дни. Поведенческие реакции животных изучали при помощи теста «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). Концентрацию серотонина и его метаболита 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Содержание первичных и вторичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали спектрофотометрически согласно методике И.А. Волчегорского и соавт. Уровень окислительной деструкции белков оценивали по содержанию карбонилированных белков.

Результаты. При тестировании в ПКЛ было установлено, что у животных через 14 сут после завершения предаторного стресса по сравнению с контролем наблюдалось усиление тревожности, которое ограничивалось курсом АПГ. Одновременно с этим установлено снижение содержания серотонина и повышение уровня 5-ГИУК, что привело к существенному повышению метаболического индекса серотонина. Курс АПГ не привел к статистически значимым изменениям содержания серотонина и его метаболита по сравнению с контролем. В группе «ПТСР+АПГ» по сравнению с группой «ПТСР» отмечено повышение концентрации серотонина при одновременном снижении 5-ГИУК и метаболического индекса серотонина. Исследование окислительного стресса в гиппокампе животных с ПТСР-подобным состоянием показало повышение базального уровня карбонилированных белков по сравнению с контролем и увеличение содержания вторичных продуктов ПОЛ.

Заклучение. При экспериментальном ПТСР в гиппокампе снижение содержания серотонина ассоциировано с усилением его метаболизма, что сопровождается усилением окислительного стресса. Нейропротекторное действие АПГ выражается в нивелировании окислительного стресса в гиппокампе.

Ключевые слова: посттравматическое стрессорное расстройство; гипоксия; гиппокамп; серотонин; окислительный стресс

Для цитирования: Алилуев А.В., Семенова Л.Ю., Порядин Г.В., Манухина Е.Б., Дауни Г.Ф., Горячева А.В., Мальцева Н.В., Шемяков С.Е., Карпенко М.Н., Пестерева Н.С., Кондашевская М.В., Цейликман В.Э. Влияние адаптации к периодической гипоксии на обмен серотонина и показатели окислительного стресса в гиппокампе крыс при экспериментальном посттравматическом стрессовом расстройстве. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65 (3): 12-20.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.12-20

Участие авторов: концепция и дизайн исследования – Семенова Л.Ю., Порядин Г.В., Шемяков С.Е., Цейликман В.Э.; сбор и обработка материала – Алилуев А.В., Манухина Е.Б., Дауни Г.Ф., Горячева А.В., Карпенко М.Н., Пестерева Н.С., Кондашевская М.В.; подготовка иллюстративного материала – Алилуев А.В., Мальцева Н.В.; статистическая обработка результатов – Алилуев А.В., Мальцева Н.В.; написание текста – Алилуев А.В., Мальцева Н.В., Цейликман В.Э.; редактирование – Семенова Л.Ю., Порядин Г.В., Шемяков С.Е., Цейликман В.Э. Утверждение окончательного варианта статьи – все соавторы.

Для корреспонденции: Алилуев Анатолий Владимирович, e-mail: aliluev@semena74.com

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Челябинской области в рамках научного проекта № 20-415-740011.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 25.06.2021

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Aliluev A.V.¹, Semenova L.Yu.², Poryadin G.V.², Manukhina E.B.³⁻⁵, Downey H.F.^{4,5}, Goryacheva A.V.³, Maltseva N.V.^{5,6}, Shemyakov S.E.², Karpenko M.N.⁷, Pestereva N.S.⁷, Kondashevskaya M.V.⁸, Tseilikman V.E.^{5,6}

Effect of adaptation to intermittent hypoxia on serotonin metabolism and oxidative stress in the hippocampus of rats with experimental post-traumatic stress disorder

¹Regional Neuropsychiatric Center,
Gvardeyskaya St. 2, Miass 456304, Chelyabinsk Region, Russian Federation;

²N.I. Pirogov Russian National Research Medical University,
1 Ostrovityanova St., Moscow 117997, Russian Federation;

³Institute of General Pathology and Pathophysiology,
8 Baltiyskaya St., Moscow 125315, Russian Federation;

⁴University of North Texas Health Science Center,
3500 Camp Bowie Blvd, Fort Worth 76710, USA;

⁵South Ural State University,
76 Prospekt Lenina, Chelyabinsk 454080, Russian Federation;

⁶Chelyabinsk State University,
129 Bratjev Kashirinykh St., Chelyabinsk 454001, Russian Federation;

⁷Institute of Experimental Medicine,
Akademika Pavlova St. 12, St. Petersburg 197376, Russian Federation;

⁸Research Institute of Human Morphology,
3 Tsyurupy St., Moscow 117418, Russian Federation

Background. Post-traumatic stress disorder (PTSD) develops long after a mental traumatic event. In patients with PTSD, low serotonin levels often combine with oxidative stress-induced inflammation. Searching for effective non-pharmacological therapies for PTSD is important. Adaptation to intermittent hypoxia (AIH) is one of highly effective and widely used methods. The **aim** of this study was to elucidate the effect of AIH on serotonin metabolism and oxidative stress in the hippocampus of rats with PTSD.

Methods. The study was performed on 34 sexually mature male Wistar rats divided into 4 groups: control, PTSD, AIH, and PTSD+AIH. Experimental PTSD was modeled with chronic predator stress, where animals were exposed to predator smell (cat urine) for 10 days, 10 min daily. Then rats were conditioned in a hypobaric altitude chamber for 14 days at a 1,000-m simulated altitude for 30 min on day 1 with altitude and duration progressively increasing to 4,000 m for 4 h on day 5 and all the remaining days. Behavioral reactions of rats were studied with the elevated plus maze (EPM) test. Concentrations of serotonin and the serotonin metabolite, 5-hydroxy indole acetic acid (5-HIAA), were measured by high-performance liquid chromatography. Contents of primary and secondary lipid peroxidation (LPO) products were measured spectrophotometrically according to the method of I.A. Volchegorskiy et al. The oxidative damage to proteins was assessed by the content of carbonylated proteins.

Results. The EPM test showed that 14 days after the predator stress completion, the anxiety level was higher than in control, and this effect was alleviated by AIH. Also, stress-exposed rats had lower serotonin and higher 5-HIAA concentrations, which resulted in a significantly higher serotonin metabolic index compared to the control. The course of AIH did not cause any significant changes in concentrations of serotonin and its metabolite as compared to the control. In the PTSD + AIH group compared to the PTSD group, the serotonin concentration was increased whereas the 5-HIAA concentration and the metabolic serotonin index were decreased. Studying oxidative stress in the hippocampus of rats with the PTSD-like condition showed that both the basal level of carbonylated proteins and the content of LPO secondary products were increased compared to the control group.

Conclusions. In experimental PTSD in the hippocampus, the decrease in serotonin content was associated with the increase in its metabolism and with potentiation of oxidative stress. The neuroprotective effect of AIH was evident as alleviation of oxidative stress in the hippocampus.

Keywords: PTSD; hypoxia; hippocampus; serotonin; oxidative stress

For citation: Aliluev A.V., Semenova L.Yu., Poryadin G.V., Manukhina E.B., Downey H.F., Goryacheva A.V., Maltseva N.V., Shemyakov S.E., Karpenko M.N., Pestereva N.S., Kondashevskaya M.V., Tseilikman V.E. Effect of adaptation to intermittent hypoxia on serotonin metabolism and oxidative stress in the hippocampus of rats with experimental post-traumatic stress disorder. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(3): 12-20. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.12-20

Contribution: study concept and design – Semenova L.Yu., Poryadin G.V., Shemyakov S.E., Tseilikman V.E.; material collection and processing – Aliluev A.V., Manukhina E.B., Downey H.F., Goryacheva A.V., Karpenko M.N., Pestereva N.S., Kondashevskaya M.V.; preparation of illustrative materials: Aliluev A.V., Maltseva N.V.; statistical processing: Aliluev A.V., Maltseva N.V.; writing text: Aliluev A.V., Maltseva N.V., Tseilikman V.E.; editing: Semenova L.Yu., Poryadin G.V., Shemyakov S.E., Tseilikman V.E. Approval of the final version of the article – all co-authors.

For correspondence: **Anatoly V. Aliluev**, Psychiatrist, State Budgetary Healthcare Institution «Regional Psychoneurological Dispensary», 2 Gvardeyskaya Str., Miass, Chelyabinsk Region 456304, Russian Federation, e-mail: aliluev@semena74.com

Financing. The study was supported by the Russian Foundation for Basic Research and by the Chelyabinsk Region as a part of scientific project # 20-415-740011.

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest. The materials of the article have not been published anywhere before.

Information about the authors:

Aliluev A.V., <https://orcid.org/0000-0003-1541-732X>
Semenova L.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-1000-0453>
Poryadin G.V., <https://orcid.org/0000-0003-2010-3296>
Manukhina E.B., <https://orcid.org/0000-0002-8102-173X>
Downey H.F., <https://orcid.org/0000-0002-7280-1021>
Shemyakov S.E., <https://orcid.org/0000-0001-6272-3026>
Karpenko M.N., <https://orcid.org/0000-0002-1082-0059>
Pestereva N.S., <https://orcid.org/0000-0002-3104-8790>
Kondashevskaya M.V., <https://orcid.org/0000-0004-3106-6840>
Tseilikman V.E., <https://orcid.org/0000-0001-6430-030X>

Received: 25.06.2021

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

Введение

Хронический стресс провоцирует развитие психосоматических расстройств [1]. Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) формируется спустя длительный срок после переживания психической травмы. Тем не менее, согласно критериям DSM V, между стрессорным событием и развитием посттравматического расстройства должна прослеживаться отчетливая связь [2]. Комплексное посттравматическое расстройство инициируется хроническим стрессом, в котором организм не может эффективно реализовать реакцию «борьба-бегство» для преодоления пси-

хотравмирующего воздействия [3]. Ингибиторы обратного захвата серотонина (ИОЗС) зарекомендовали себя как наиболее эффективные средства среди фармакологических препаратов, используемых для коррекции ПТСР [4]. Прежде всего, их мишенью является серотониновый транспортер, локализованный в пресинаптических терминалях [5]. Соответственно, связываясь с ним, ИОЗС ограничивают откачивание серотонина из синаптической щели в пресинаптическую терминаль, где нейротрансмиттер подвергается окислительному дезаминированию моноаминок-

сидазой А (МАО-А). Высокая эффективность ИОЗС для ПТСР служит аргументом в пользу представлений о значении дефицита серотонина в мозге в патогенезе ПТСР. Серотонин играет роль в регулировании таких нейроэндокринных функций, как сон, аппетит, сексуальное поведение, агрессия/импульсивность, автоматические двигательные реакции. Кроме того, серотонин участвует в модуляции аффективных и стрессовых реакций, а также играет важную роль в развитии посттравматического стресса [6], выраженность которого варьируется в зависимости от интенсивности стрессора. Имеются клинические и экспериментальные данные о низком уровне серотонина у больных ПТСР [7, 8], который часто сочетается с окислительным стрессом, обусловленным нейровоспалением [9].

При ПТСР отмечается низкая эффективность лекарственной терапии [10]. В частности, даже ИОЗС которые считаются самыми результативными препаратами для коррекции ПТСР, обладают положительным терапевтическим действием лишь у весьма ограниченной когорты больных [11]. Поэтому в настоящее время представляется актуальным поиск эффективных средств немедикаментозной коррекции ПТСР. Одним из высокоэффективных и наиболее широко используемых методов активации стресс-лимитирующих систем и повышения резистентности к различным видам стресса является адаптация к периодической гипоксии (АПГ) [12]. АПГ обладает выраженным нейропротекторным действием. Так, АПГ предупреждает поведенческие нарушения и защищает нейроны мозга при экспериментальной эпилепсии, паркинсонизме и болезни Альцгеймера [13]. При этом нейропротекторный эффект АПГ сопровождается ограничением окислительного стресса. Ранее нами было показано, что АПГ предупреждает развитие тревожности на модели посттравматического стрессового расстройства у крыс [14]. Однако механизмы протекторного действия АПГ остаются неизвестными. Одной из возможных мишеней адаптации к периодической гипоксии является серотонинергическая система ЦНС. Также вероятно, что АПГ одновременно приводит к ограничению окислительного стресса. **Цель работы** – исследование влияния АПГ на обмен серотонина и показатели окислительного стресса в гиппокампе крыс с экспериментальным ПТСР.

Методика

Исследование выполнено в осенне-зимний период на 34 половозрелых самцах крыс Вистар, содержавшихся в отдельных клетках, не более 9 особей в каждой. Все экспериментальные процедуры проводили в соответ-

ствии с регламентом декларации ЕС от 2010 г. об использовании лабораторных животных.

Было сформировано 4 группы животных: 1-я группа «КОНТРОЛЬ» – интактные животные, 2-я группа «ПТСР» – крысы, у которых моделировали ПТСР, 3-я группа «АПГ» – животные, подвергнутые АПГ, 4-я группа «ПТСР+АПГ» – животные, у которых моделировали ПТСР, а затем подвергали АПГ.

В качестве модели экспериментального ПТСР была использована модифицированная модель предаторного стресса Н. Cohen и соавт. [15], в которой было изменено количество экспозиций «запаха хищника» (кошачьей мочи) с одного до 10 раз. Животные подвергались стрессу ежедневно в течение 10 мин [16]. Мочевые метки взрослого домашнего кота предьявлялись в чашках Петри, накрытых медицинской марлей, животным группы «ПТСР» и «ПТСР+АПГ». Животным из групп «КОНТРОЛЬ» и «АПГ» предьявляли чашку Петри с питьевой водой.

Адаптации к гипоксии подвергались крысы из групп «АПГ» и «ПТСР+АПГ». Крыс кондиционировали с помощью гипобарической барокамеры в течение 14 сут подряд на высоте 4000 м над уровнем моря (барометрическое давление 748 мм рт. ст., парциальное давление O_2 159 мм рт. ст.) [17]. АПГ начинали на следующий день после завершения 10-суточного воздействия предаторного стресса. В 1-е сут крыс подвергали воздействию высоты 1000 м (барометрическое давление 680 мм рт. ст., парциальное давление O_2 140 мм рт. ст.) в течение 30 мин; на 2-е сут – 2000 м (барометрическое давление 600 мм рт. ст.; парциальное давление O_2 125 мм рт. ст.) в течение 1 ч; на 3-и сут – 3000 м (барометрическое давление 530 мм рт. ст.; парциальное давление O_2 110 мм рт. ст.) в течение 1,5 ч; на 4-е сут – 4000 м (барометрическое давление 460 мм рт. ст.; парциальное давление O_2 98 мм рт. ст.) в течение 2 ч; на 5-е сут – 4000 м в течение 3 ч и с 6-х по 14-е сутки – 4000 м за 4 ч скорость «подъема» на расчетную высоту не превышала 15 м/с.

Поведенческие реакции животных исследовали в конце эксперимента при помощи теста «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ). В этом тесте регистрировали в течение 600 с время нахождения в открытых и закрытых рукавах, а также число заходов в открытые и закрытые рукава. Индекс тревожности (ИТ), определяющий наличие тревожных расстройств, вычисляли по формуле:

$$ИТ = 1 - \left\{ \left(\frac{\text{время в открытых рукавах}}{\sum \text{время в лабиринте}} \right) + \left(\frac{\text{количество входов в открытые рукава}}{\sum \text{количество всех входов}} \right) \right\} / 2$$

Концентрацию серотонина и его метаболита 5-гидроксииндолуксусной кислоты (5-ГИУК) определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Образцы ткани гиппокампа гомогенизировали в 0,1М хлорной кислоте и центрифугировали при 10 000 g и +4 °С в течение 30 мин. Супернатант отбирали и фильтровали через шприцевой фильтр с размером пор 0,2 мкм (Whatman, США). На анализ брали 20 мкл образца. Анализ проводили в изократических условиях с использованием обращённо-фазовой колонки (длина алкильной цепи C_{18}) с последующей электрохимической детекцией. Электрохимическая детекция осуществлялась стеклоуглеродным электродом при +700 мВ. Количество серотонина и 5-ГИУК в образце выражали в пг/мг ткани.

Содержание продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали спектрофотометрически согласно методике И.А. Волчегорского и соавт. [18]. Измерение оптической плотности пробы проводили при длинах волн 220 и 232 нм против соответствующего оптического контроля в кварцевых кюветах толщиной 1 см. Полученные результаты представлены в виде индекса окисления $-E_{232}/E_{220}$ (кетодиены и сопряженные триены).

Уровень окислительной деструкции белков оценивали по содержанию карбонилированных белков [19]. Для определения уровня спонтанной и металл-катализируемой окислительной модификации белков использовали 0,1 мл 10% гомогената исследуемой ткани. После обработки ТХУ, в первую порцию (опыт) добавляли 0,1 мл 0,1М раствора 2,4-динитрофенилгидразина (2,4-ДНФГ), а во вторую порцию (контроль) — 0,1 мл 2М раствора HCl. Далее пробы инкубировали в течение 1 ч при комнатной температуре и для получения белкового осадка центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Осадок промывали 2 раза в 5 мл смеси этанол-этилацетат (1:1) для экстракции липидов и 2,4-ДНФГ, который не прореагировал с карбонильными группами модифицированных белков. Полученный очищенный осадок высушивали для удаления растворителей и растворяли в 2,5 мл 8М раствора мочевины. Для лучшего растворения белкового осадка в каждую пробу добавляли 15 мкл 2М раствора HCl. Оптическую плотность полученных растворов измеряли при 270 и 370 нм.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью однофакторного дисперсионного анализа (One-Way ANOVA) с использованием post-hoc критерия Tukey для сравнения значимости различий между группами. Предварительно проводилась проверка выборки на нормальность распределения (критерий Ша-

пиро-Уилка). Изучение взаимосвязей проводили путем расчета коэффициента корреляции по Спирмену (r_s) при критическом уровне $p=0.05$.

Результаты

При тестировании в ПКЛ было установлено, что у животных через 14 сут после завершения предаторного стресса (группа «ПТСР») по сравнению с контролем наблюдалось усиление тревожности, которое выражалось в увеличении времени нахождения в закрытых ($p < 0.001$) и снижении времени пребывания в открытых рукавах ($p = 0.015$) лабиринта. Установлено, что в группе «ПТСР» ИТ был выше, чем в контроле ($p = 0.035$) (табл. 1).

Курс АПГ у животных в отсутствие стресса (группа «АПГ») сопровождался следующими изменениями по сравнению с контролем: а) уменьшением времени нахождения в закрытых рукавах ($p < 0.001$); б) полторократным увеличением времени нахождения в открытых рукавах ($p < 0.001$); в) снижением значения ИТ по сравнению с контролем ($p = 0.035$).

У животных группы «ПТСР+АПГ» по сравнению с группой «ПТСР» прослеживались следующие изменения показателей теста крестообразный лабиринт: а) уменьшение времени пребывания в закрытых рукавах ($p < 0.001$); б) увеличение времени нахождения в открытых рукавах ($p < 0.001$); в) снижение значения ИТ ($p = 0.04$). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о способности курса АПГ ограничивать постстрессорную тревожную симптоматику (табл. 1).

В гиппокампе животных, перенесших стресс (группа «ПТСР»), установлено снижение содержания серотонина по сравнению с контролем (табл. 2). Одновременно отмечено повышение концентрации основного метаболита серотонина — 5-ГИУК ($p < 0.001$). Это привело к существенному повышению метаболического индекса серотонина ($p < 0.001$). Обращает на себя внимание наличие отрицательной корреляции между индексом тревоги и концентрацией серотонина ($r = -0.66$; $p < 0.05$).

Курс АПГ не привел к статистически значимым изменениям содержания серотонина и его метаболита по сравнению с контролем.

В группе «ПТСР+АПГ» по сравнению с группой «ПТСР» отмечено повышение концентрации серотонина ($p < 0.001$) при одновременном снижении основного серотонинового метаболита 5-ГИУК ($p < 0.001$) и метаболического индекса серотонина ($p = 0.033$).

Исследование окислительного стресса в гиппокампе животных с ПТСР-подобным состоянием показало повышение базального уровня карбонилиро-

Таблица 1

Влияние адаптации к периодической гипоксии на поведенческую активность

Показатель/Группа	КОНТРОЛЬ <i>n</i> =7	ПТСР <i>n</i> =9	АПГ <i>n</i> =9	ПТСР+АПГ <i>n</i> =9
Время в открытых рукавах, с	74.6±9.5	30.0±6.42 *	112.7±24.5*	62.7±9.5 #
Время в закрытых рукавах, с	525.4±78.3	570.0±19.6*	487.3±62.8*	537.3±15.2#
Количество заходов в открытые рукава	3.3±0.4	2.9±0.3	3.2±0.5	3.3±0.6
Количество заходов в закрытые рукава	6.4±0.6	6.2±0.7	6.9±0.3	7.0±0.6
Индекс тревожности (ИТ)	0.76±0.05	0.82±0.07 *	0.67±0.06 *	0.78±0.07 #

Примечание. КОНТРОЛЬ – интактные животные, ПТСР – крысы, у которых моделировали ПТСР, АПГ – животные, подвергнутые адаптации к периодической гипоксии, ПТСР+АПГ – животные, у которых моделировали ПТСР, а затем подвергали адаптации к периодической гипоксии. * – достоверные отличия от контроля, # – достоверные различия между группами «ПТСР» и «ПТСР+АПГ», *p* < 0.05.

Table 1

Effect of adaptation to intermittent hypoxia on behavioral activity

Indicator/Group	Control <i>n</i> =7	PTSD <i>n</i> =9	AIH <i>n</i> =9	PTSD + AIH <i>n</i> =9
Time spent in the open arms, sec.	74.6±9.5	30.0±6.42 *	112.7±24.5*	62.7±9.5 #
Time spent in closed arms, sec.	525.4±78.3	570.0±19.6*	487.3±62.8*	537.3±15.2#
The number of entries into open arms	3.3±0.4	2.9±0.3	3.2±0.5	3.3±0.6
The number of entries into closed arms	6.4±0.6	6.2±0.7	6.9±0.3	7.0±0.6
Anxiety index (IA)	0.76±0.05	0.82±0.07 *	0.67±0.06 *	0.78±0.07 #

Notes. CONTROL, intact rats; PTSD, rats with experimental PTSD; AIH, rats adapted to intermittent hypoxia; PTSD+AIH, rats with experimental PTSD exposed to AIH.

**p* < 0.05, significant differences from control; #*p* < 0.05, significant differences between groups PTSD and PTSD+AIH.

Таблица 2

Влияние адаптации к периодической гипоксии на метаболизм серотонина в гиппокампе

Показатель/Группа	КОНТРОЛЬ <i>n</i> =7	ПТСР <i>n</i> =9	АПГ <i>n</i> =9	ПТСР+АПГ <i>n</i> =9
Серотонин, пг/мг ткани	170.6±21.4	108.3±13.6*	164.1±24.4	151.5±12.8 #
5-ГИУК, пг/мг ткани	470.3±32.7	778.8±79.9*	528.6±63.6	488.0±44.8 #
Метаболический индекс серотонина, у.е.	2.7±0.7	7.1±0.4 *	3.2±0.2	3.2±0.6 #

Примечание. КОНТРОЛЬ – интактные животные, ПТСР – крысы, у которых моделировали ПТСР, АПГ – животные, подвергнутые адаптации к периодической гипоксии, ПТСР+АПГ – животные, у которых моделировали ПТСР, а затем подвергали адаптации к периодической гипоксии.

* – достоверные отличия от контроля, # – достоверные различия между группами «ПТСР» и «ПТСР+АПГ», *p* < 0.05.

Table 2

Effect of adaptation to intermittent hypoxia on serotonin metabolism

Indicator/Group	Control <i>n</i> =7	PTSD <i>n</i> =9	AIH <i>n</i> =9	PTSD + AIH <i>n</i> =9
Serotonin (pg/mg tissue)	170.6±21.4	108.3±13.6*	164.1±24.4	151.5±12.8 #
5-HIAA pg/mg tissue	470.3±32.7	778.8±79.9*	528.6±63.6	488.0±44.8 #
Metabolic index of serotonin, conv. units	2.7±0.7	7.1±0.4 *	3.2±0.2	3.2±0.6 #

Notes. CONTROL, intact rats; PTSD, rats with experimental PTSD; AIH, rats adapted to intermittent hypoxia; PTSD+AIH, rats with experimental PTSD exposed to AIH.

**p* < 0.05, significant differences from control; #*p* < 0.05, significant differences between groups PTSD and PTSD+AIH.

ванных белков по сравнению с контролем ($p < 0.001$) (табл. 3). После инкубации в системе Фэнтонна содержание карбонилированных белков значительно повышалось ($p < 0.001$). Вместе с тем, у животных, перенесших стресс, отмечен повышенный уровень ПОЛ относительно контроля, который выражался в увеличении содержания вторичных продуктов ПОЛ ($p < 0.001$). При этом отмечена положительная корреляция между содержанием этой категории продуктов ПОЛ и величиной ИТ ($r = 0.73$; $p < 0.05$).

Курс АПГ сам по себе не оказывал влияния на содержание молекулярных продуктов ПОЛ и уровень карбонилированных белков. Но АПГ значительно ограничивала окислительный стресс в гиппокампе животных, перенесших стресс (группа «ПТСР + АПГ»), что было видно по 14%-му снижению продуктов ПОЛ и 23%-му снижению окисляемости белка в группе «ПТСР + АПГ» по сравнению с группой ПТСР ($p = 0.002$).

Обсуждение

Патогенез ПТСР включает в себя нарушения межнейронных связей гиппокампа с префронтальной корой и амигдалой [20]. При этом дестабилизация серотонинергической системы является критическим фактором в разбалансировке оси «гиппокамп-амигдала». Как известно,

амигдала является основным «драйвером» тревожности. Поэтому обнаруженная нами обратная корреляция между содержанием серотонина в гиппокампе и величиной ИТ представляется вполне закономерной. Характерные поведенческие реакции у животных свидетельствуют о наличии тревожных расстройств и демонстрируют редукцию размеров гиппокампа у больных ПТСР. Известно, что ПТСР сопровождается сниженным уровнем кортизола и повышенным уровнем провоспалительных цитокинов [21]. В частности, при экспериментальном ПТСР отмечено увеличение экспрессии IL-1 в гиппокампе [22]. Провоспалительные цитокины вызывают окислительный стресс [23], который может развиваться у больных ПТСР на фоне длительного гипокортикозолизма. Характерной особенностью окислительного стресса при сниженном уровне глюкокортикоидов является увеличение содержания базальных или индуцированных карбонилированных белков, что и наблюдалось на этой экспериментальной модели ПТСР. Одновременно выявили высокое содержание вторичных продуктов ПОЛ (кетодиенов и сопряженных триенов), которые являются высокотоксичными для клеток гиппокампа [18]. Скорее всего, повышенный уровень свободнорадикального окисления отражает деструктивные процессы в гиппокампе при экспериментальном ПТСР.

Таблица 3

Влияние адаптации к периодической гипоксии на окислительный стресс в гиппокампе

Показатель/Группа	КОНТРОЛЬ <i>n</i> =7	ПТСР <i>n</i> =9	АПГ <i>n</i> =9	ПТСР+АПГ <i>n</i> =9
Кетодиены и сопряженные триены (E_{278}/E_{220})	0.037±0.005	0.045±0.001 *	0.034±0.0027	0.038±0.006#
Карбонилированные белки (базальный уровень; нМ/гр белка)	58.5±12.8	91.8±31.5 *	67.5±6.5	55.3±44.7 #
Карбонилированные белки (индукция Fe^{2+}/H_2O_2 ; нМ/гр белка)	97.5±16.5	230.8±45.7 *	120.4±23.8	84.8±9.5 #

Примечание. Контроль – интактные животные, ПТСР – крысы, у которых моделировали ПТСР, АПГ – животные, подвергнутые адаптации к периодической гипоксии, ПТСР+АПГ – животные, у которых моделировали ПТСР, а затем подвергали адаптации к периодической гипоксии; * – достоверные отличия по сравнению с контролем, # – достоверные отличия между группами «ПТСР» и «ПТСР+АПГ», $p < 0.05$.

Table 3

Effect of adaptation to intermittent hypoxia on oxidative stress in the hippocampus of animals

Indicator/Group	Control <i>n</i> =7	PTSD <i>n</i> =9	AIH <i>n</i> =9	PTSD + AIH <i>n</i> =9
Ketodienes and conjugated trienes (E_{278}/E_{220})	0.037±0.005	0.045±0.001 *	0.034±0.0027	0.038±0.006#
Carbonylated proteins (basal level; nM/g protein)	58.5±12.8	91.8±31.5 *	67.5±6.5	55.3±44.7 #
Carbonylated proteins (induction Fe^{2+}/H_2O_2 ; nM/g)	97.5±16.5	230.8±45.7 *	120.4±23.8	84.8±9.5 #

Notes. CONTROL, intact rats; PTSD, rats with experimental PTSD; AIH, rats adapted to intermittent hypoxia; PTSD+AIH, rats with experimental PTSD exposed to AIH.

* $p < 0.05$, significant differences from control; # $p < 0.05$, significant differences between groups PTSD and PTSD+AIH.

Повреждения в гиппокампе при экспериментальном ПТСР сопровождаются снижением в нем содержания серотонина. Возможно, это связано с увеличением его обратного транспорта с последующим окислительным дезаминированием MAO-A.

АПГ сама по себе не оказывала значимого влияния на показатели серотонинового метаболизма и окислительного стресса. Однако АПГ нивелировала эффекты предаторного стресса в гиппокампе, что можно рассматривать как важное проявление упомянутого ранее нейропротекторного эффекта АПГ. Вероятно, защитное действие АПГ в отношении гиппокампа связано с ограничением окислительного стресса и, как следствие, нейровоспаления. Купирование окислительного стресса способствует стабилизации метаболизма серотонина в гиппокампе. Принципиально важно, что АПГ приводит к резкому снижению метаболического индекса серотонина у животных, перенесших стресс, который рассматривается как косвенный показатель обратного захвата серотонина [24]. Следовательно, АПГ может оказывать аналогичное ИОЗС влияние на серотонинергическую систему, что позволяет рассматривать АПГ в качестве альтернативы фармакологической коррекции ПТСР.

Выводы

1. При экспериментальном ПТСР в гиппокампе снижение содержания серотонина ассоциировано с усилением его метаболизма.

2. При экспериментальном ПТСР в гиппокампе усиление метаболизма серотонина ассоциировано с усилением окислительного стресса.

3. Нейропротекторное действие АПГ при экспериментальном ПТСР выражается в нивелировании окислительного стресса в гиппокампе.

4. Протекторное действие АПГ в отношении тревожной симптоматики ПТСР сопровождается стабилизацией метаболизма серотонина в гиппокампе.

Литература

(п.п. 1-17; 20-24 см. References)

18. Волчегорский И.А. и др. Экспериментальное моделирование и лабораторная оценка адаптивных реакций организма. Челябинск: Издательство ЧГПУ; 2000.
19. Дубинина Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях окислительного стресса. *Вопросы медицинской химии*. 2001; 47(6): 561-81.

References

1. Fava G.A., Cosci F., Sonino N. Current Psychosomatic Practice. *Psychother Psychosom*. 2017; 86(1): 13-30.

2. Cheng C.H., Lee S.S., Lee S.K., Bray C., Zimmerman T., Gewirtz A.H. A Conversion Crosswalk for the UCLA PTSD Reaction Index: Translating DSM-IV to DSM-5. *J Trauma Stress*. 2021; 34(4): 872-9.
3. Ford J.D., Courtois C.A. Complex PTSD and borderline personality disorder. *Borderline Personal Disord Emot Dysregul*. 2021; 8(1): 16.
4. McDermott T.J., Lee J.Y., Paquet C.P., Huber F.A., Sitz A.L., Robertson K., et al. Exposure, relaxation, and rescripting therapy could treat residual nightmares following PTSD treatment. *Psychiatry Res*. 2021 Jan; 295:113630.
5. Jannini T.B., Di Lorenzo G., Bianciardi E., Niolu C., Toscano M., Ciocca G. et al. Off-label uses of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs). *Curr Neuropharmacol*. 2021 May 17.
6. Bamanan O.A., Al Khalili Y. *Physiology, Serotonin*. 2021 Mar 25. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021. Jan.
7. Spivak B., Vered Y., Graff E., Blum I., Mester R., Weizman A. Low platelet-poor plasma concentrations of serotonin in patients with combat-related posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*. 1999; 45(7): 840-5.
8. Wilson C.B., Ebenezer P.J., McLaughlin L.D., Francis J. Predator exposure/psychosocial stress animal model of post-traumatic stress disorder modulates neurotransmitters in the rat hippocampus and prefrontal cortex. *PLoS One*. 2014; 9(2): e89104.
9. Pavlov D., Bettendorff L., Gorlova A., Olkhovik A., Kalueff A.V., Ponomarev E.D. et al. Neuroinflammation and aberrant hippocampal plasticity in a mouse model of emotional stress evoked by exposure to ultrasound of alternating frequencies. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019; 90: 104-16.
10. Ehret M. Treatment of posttraumatic stress disorder: Focus on pharmacotherapy. *Ment Health Clin*. 2019; 9 (6): 373-82.
11. Illingworth B.J., Lewis D.J., Lambarth A.T., Stocking K., Duffy J.M., Jelen L.A., et al. A comparison of MDMA-assisted psychotherapy to non-assisted psychotherapy in treatment-resistant PTSD: A systematic review and meta-analysis. *J Psychopharmacol*. 2021; 35(5): 501-11.
12. Meerson F.Z. *Essentials of adaptive medicine: protective effects of adaptation*. Moscow; Hypoxia Medical LTD; 1994.
13. Manukhina E.B., Goryacheva A.V., Smirin B.V., Malyshev I.Yu., Budanova O.P., Downey H.F. Prevention of cerebrovascular and neurodegenerative disorders by adaptation to hypoxia in Alzheimer's disease. *Adaptation Biology and Medicine*. 2017; 8: 241-260514.
14. Manukhina E.B., Tseilikman V.E., Tseilikman O.B., Komelkova M.V., Kondashevskaya M.V., Goryacheva A.V., et al. Intermittent hypoxia improves behavioral and adrenal gland dysfunction induced by posttraumatic stress disorder in rats. *J Appl Physiol* (1985). 2018; 125(3): 931-7.
15. Cohen H., Kozlovsky N., Alona C., Matar M.A., Joseph Z. Animal model for PTSD: From clinical concept to translational research. *Neuropharmacology*. 2012; 62: 715-24.
16. Tseilikman V., Dremencov E., Maslennikova E., Ishmatova A., Manukhina E., Downey H.F., et al. Post-traumatic stress disorder chronification via monoaminoxidase and cortisol metabolism. *Horm. Metab. Res*. 2019; 51: 618-22.
17. Goryacheva A.V., Kruglov S.V., Pshennikova M.G., Smirin B.V., Malyshev I.Yu., Barskov I.V., et al. Adaptation to intermittent hypoxia restricts nitric oxide overproduction and prevents beta-amyloid toxicity in rat brain. *Nitric Oxide*. 2010; 23: 289-99.
18. Volchegorskiy I.A., et al. *Experimental modeling and laboratory evaluation of adaptive reactions of the body*. Chelyabinsk; Publishing House, CHGPU. [Экспериментальное моделирование и лабораторная

- otsenka adaptivnykh reaktivnykh organizma].* Chelyabinsk; Izdatel'stvo CHGPU, 2000.
19. Dubinina E.E. The role of reactive oxygen species as signaling molecules in tissue metabolism under conditions of oxidative stress. *Voprosy meditsinskoj khimii.* 2001; 47(6): 561-81.
 20. Pitman R.K., Rasmusson A.M., Koenen K.C., Shin L.M., Orr S.P., Gilbertson M.W., et al. Biological studies of post-traumatic stress disorder. *Nat Rev Neurosci.* 2012; 13(11): 769-87.
 21. Sagarwala R., Nasrallah H.A. Changes in inflammatory biomarkers before and after SSRI therapy in PTSD: A review. *Ann Clin Psychiatry.* 2019; 31(4): 292-7.
 22. Jones M.E., Lebonville C.L., Paniccia J.E., Balentine M.E., Reissner K.J., Lysle D.T. Hippocampal interleukin-1 mediates stress-enhanced fear learning: A potential role for astrocyte-derived interleukin-1 β . *Brain Behav Immun.* 2018; 67: 355-63.
 23. Aimo A., Castiglione V., Borrelli C., Saccaro L.F., Franzini M., Masi S., et al. Oxidative stress and inflammation in the evolution of heart failure: From pathophysiology to therapeutic strategies. *Eur J Prev Cardiol.* 2020; 27(5): 494-510.
 24. Slotkin T.A., Seidler F.J. A unique role for striatal serotonergic systems in the withdrawal from adolescent nicotine administration. *Neurotoxicol Teratol.* 2007; 29(1): 10-6.

Сведения об авторах:

Алилуев Анатолий Владимирович, врач-психиатр, e-mail: aliluev@semena74.com;

Семенова Людмила Юрьевна, доктор мед. наук, проф. каф. патофизиологии и клинической патофизиологии, e-mail: semenovaly@mail.ru;

Порядин Геннадий Васильевич, доктор мед. наук, проф., чл.-корр. РАН;

Манухина Евгения Борисовна, доктор биол. наук, проф., гл. науч. сотр., e-mail: manukh@mail.ru ;

Дауни Гарри Фред, доктор биол. наук, проф., e-mail: freddowney@yahoo.com;

Горячева Анна Владимировна, науч. сотр., e-mail: goryacheva@mail.ru;

Мальцева Наталья Васильевна, канд. мед. наук, доцент, ст. науч. сотр., заместитель декана факультета фундаментальной медицины, e-mail: malinanv_1@mail.ru;

Шемяков Сергей Евгеньевич, доктор мед. наук, проф., зав. каф. анатомии человека;

Карпенко Марина Николаевна, канд. биол. наук, зав. лаб., e-mail: mnkarpenko@mail.ru;

Пестерева Нина Сергеевна, аспирант, науч. сотр., e-mail: pesterevans@yandex.ru;

Кондашевская Марина Владиславовна, доктор биол. наук, гл. науч. сотр., e-mail: marivladiko@mail.ru;

Цейликман Вадим Эдуардович, доктор биол. наук, проф., директор Высшей медико-биологической школы, e-mail: vadimed@yandex.ru