

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической  
иммунологии»

*На правах рукописи*



Княжева Мария Александровна

РЕДАКТИРОВАНИЕ ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНОГО ФЕНОТИПА  
МОДУЛИРОВАННЫМИ *EX VIVO* КОФЕИНОМ  
ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫМИ КЛЕТКАМИ

3.2.7. - Аллергология и иммунология

Диссертация на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Научный руководитель:

д.м.н., доцент Е.В. Маркова

## Оглавление

Глава 1. Введение.....	4
Глава 2. Обзор литературы.....	16
2.1. Депрессия, как социально значимое заболевание.....	16
2.1.2. Нейроиммунные механизмы развития депрессии.....	18
2.2. Гипотезы формирования большого депрессивного расстройства.....	19
2.2.1. Моноаминовая гипотеза депрессии.....	19
2.2.2. Роль стресса в развитии депрессии. Гипотеза нарушения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси.....	26
2.2.3. Генетическая гипотеза депрессии.....	29
2.2.4. Нейродегенеративная гипотеза депрессии.....	30
2.2.5. Инфламмасомная гипотеза депрессии. Роль Toll- подобных рецепторов в активации инфламмасомы.....	39
2.2.6. Иммунная система и депрессия. Цитокиновая гипотеза депрессии..	43
2.3. Экспериментальные модели депрессии.....	60
2.4. Подходы к лечению большого депрессивного расстройства .....	64
2.4.1. Иммуномодулирующие свойства кофеина .....	66
Глава 3. Материалы и методы исследования.....	72
Глава 4. Результаты собственных исследований .....	84
4.1. Дизайн исследования .....	84
4.2. Оценка сформированности депрессивно-подобного состояния. у самцов (CBA×C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.....	86
4.3. Характеристика трансплантируемых клеток.....	103
4.4. Влияние трансплантации модулированных <i>ex vivo</i> кофеином иммунокомпетентных клеток на поведение, показатели функциональной активности иммунной и нервной систем у сингенных депрессивно- подобных реципиентов.....	107

4.4.1. Поведенческий фенотип реципиентов .....	107
4.4.2. Показатели функциональной активности иммунной системы реципиентов .....	112
4.4.2.1. Интенсивность гуморального и клеточного иммунного ответа ..	112
4.4.2.2. Пролиферативная активность спленоцитов .....	113
4.4.2.3. Продукция цитокинов спленocyтaми .....	115
4.4.2.4. Уровень триптофана в спленocyтaх .....	116
4.4.3. Структурно- функциональные показатели нервной системы депрессивно- подобных реципиентов после трансплантации модулированных <i>in vitro</i> кофеином сингенных спленоцитов.....	119
4.4.3.1. Морфологическая характеристика ядер гиппокампа .....	120
4.4.3.2. Уровень BDNF и цитокинов в отдельных структурах головного мозга.....	123
Глава 5. Обсуждение результатов.....	129
Заключение.....	149
Выводы.....	153
Список сокращений.....	155
Список литературы.....	157

## **Глава 1. Введение**

### **Актуальность проблемы**

Депрессия является серьезной медико-социальной проблемой в силу большой распространенности (от нее страдают более 300 миллионов человек во всем мире), вовлеченности лиц трудоспособного возраста и отсутствия высокоэффективной терапии [Zhou et al., 2021; World Health Organization, 2021]. Социальные стрессорные факторы способствуют распространенности депрессии. Пандемия COVID-19 и связанные с ней правила социального дистанцирования [Chaturvedi, 2020], военные столкновения, ухудшение экономической ситуации, информационная война могут приводить к болезненной «ломке» социально-биологических механизмов адаптации и способствовать увеличению распространенности депрессивных расстройств, которые по прогнозам ВОЗ к 2030 году могут занять второе место в структуре причин нетрудоспособности [World Health Organization, 2021]. Патогенез депрессивных состояний до конца не изучен, тем не менее, многочисленные факты указывают на важную роль нарушения процессов нейроиммунного взаимодействия. Иммунная и нейроэндокринная системы играют важнейшую роль в поддержании динамического гомеостаза организма, как в нормальных физиологических условиях, так и при психической дезадаптации; психо- и иммунопатология тесно взаимосвязаны: патологические изменения в функционировании обеих систем происходят одновременно и взаимообусловлены [Ader, 2007; Ветлугина и др., 2010, 2017]. Нарушение нейроиммунных механизмов в патогенезе депрессивных расстройств включает дисбаланс нейромедиаторных систем; снижение процессов нейропластичности,

повышение эндогенных нейротоксинов, нейродегенеративные изменения, активацию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатической систем, модулирующих функциональную активность иммунной системы [Miller, Raison, 2016; Liu et al., 2020; Stapelberg et al., 2022]. Иммунные нарушения при тревожно-депрессивных расстройствах у человека и при их моделировании у животных включают подавление иммунного ответа, угнетение Т-клеточных функций, активацию клеток врожденного иммунитета, при этом депрессия рассматривается как хронический низкоградиентный воспалительный процесс. В модели стресс-индуцированного депрессивно-подобного состояния показано, что хронический стресс оказывает провоспалительный эффект - усиливает мобилизацию моноцитов из костного мозга в циркуляцию и их миграцию в селезенку, легкие и головной мозг, индуцирует резистентность миелоидных клеток к глюкокортикоидам; усиливает экспрессию адгезивных молекул на эндотелиальных клетках, повышает уровень провоспалительных цитокинов в крови и головном мозге [Niraula et al., 2018]. Основными цитокинами, вовлеченными в патогенез депрессии, по результатам мета - анализов являются ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ- 12, ФНО -  $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$  [Köhler et al, 2017; Liu et al, 2020]. Показана также патогенетическая роль ИЛ-2, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-13, ИЛ-17, ИЛ-18 [Leonard, Maes, 2012; Kappelmann et al, 2021]. Периферические цитокины, продуцируемые клетками иммунной системы, проникая через гематоэнцефалический барьер, оказывают модулирующее влияние на цитокиновую сеть мозга, а затем, посредством влияния на нейроэндокринные функции, нейротрансмиттерные системы и нейрональную активность вовлекаются в патофизиологические механизмы депрессии. При этом способность провоспалительных моноцитов мигрировать в периваскулярные пространства и ткани мозга и через интрацеребральную продукцию провоспалительных цитокинов активировать микроглию раскрывает иммунно-опосредованные

механизмы влияния периферических иммунокомпетентных клеток (ИКК) на функции ЦНС, включая поведенческие реакции [Furlan et al, 2020; Dye, 2022; Kim et al, 2022].

Изменение цитокинового профиля на периферии и в ЦНС, равно как и модуляция активности нейромедиаторных систем головного мозга, опосредуют также иммуномодулирующие и поведенческие эффекты психоактивных веществ, используемых в терапии депрессивных расстройств [Köhler et al, 2017; Liu et al, 2020]. Классические антидепрессанты и анксиолитики, при всех положительных эффектах, недостаточно корректируют нарушения в когнитивной сфере при депрессивных расстройствах, и остается большой процент пациентов с хроническими симптомами. Указанные препараты имеют достаточно широкий спектр побочных эффектов в результате недифференцированного воздействия на органы и ткани организма; при этом они, в большинстве своем, быстро выводятся из организма, что обуславливает необходимость их многократного введения для поддержания терапевтического эффекта; это приводит к формированию привыкания и ограничивает возможности их применения. Кроме того, лекарственный патоморфоз ряда психических заболеваний, включая депрессивные расстройства, приводит к увеличению числа пациентов, устойчивых к общепринятым психофармакологическим средствам: примерно треть всех пациентов не реагируют на терапию. Это делает поиск новых методов лечения указанной патологии актуальной задачей современной медицинской науки. Одним из путей решения проблемы является разработка новых методов лечения, основанных на иммунологических подходах. Терапия депрессивных расстройств, применяемая в настоящее время, не обеспечивает полного излечения, вероятно, в связи с формированием "порочного круга", разорвать который возможно лишь путем нормализации нейроиммунной регуляторной взаимосвязи. Выраженное фенотипическое и функциональное сходство клеток ЦНС и иммунной системы, однонаправленное влияние на них

большинства психоактивных препаратов подтверждает межсистемную взаиморегуляцию и позволяет рассматривать ИКК в качестве модельных объектов для воздействия на межсистемную функциональную взаимосвязь. В лаборатории нейроиммунологии НИИФКИ впервые была установлена возможность и определены основные механизмы направленного изменения паттернов поведения трансплантацией ИКК с определенной функциональной активностью [Markova, 1999-2016; Маркова, 2006-2023]. Способность лимфоцитов после адоптивного переноса модулировать поведение и когнитивные функции, в том числе и путем непосредственного контакта с клетками ЦНС, в последние годы показана также и другими исследователями [Song, 2016; Clark, 2016,2018], что предполагает возможность коррекции депрессивных расстройств с использованием ИКК с направленно измененной *ex vivo* психоактивным веществом функциональной активностью. Выраженные иммуномодулирующие свойства кофеина, в том числе, рецептор-опосредованная модуляция функциональной активности ИКК различных типов, включая спленциты [Anzari et al., 2017; Açıkalın, 2021], теоретически обосновывает возможность использования этого психоактивного вещества для модуляции *in vitro* нарушенной при депрессивно-подобном состоянии функциональной активности ИКК. Исследования в этой области позволяют расширить представления о патогенетических механизмах патологических состояний, связанных с нарушением нейроиммунных регуляторных связей, включая депрессивные расстройства, равно как и обосновать новые подходы к их терапии.

### **Цели и задачи исследования**

**Цель:** изучение влияния трансплантации иммунокомпетентных клеток, модулированных *ex vivo* кофеином, на функциональную активность

иммунной и нервной систем, поведенческий фенотип у депрессивно-подобных сингенных реципиентов.

### **Задачи:**

1. Оценить в условиях *in vitro* влияние кофеина на функциональные свойства спленоцитов мышей в депрессивно-подобном состоянии.
2. Охарактеризовать поведенческий фенотип сингенных депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином спленоцитов.
3. У сингенных депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином спленоцитов исследовать показатели функциональной активности иммунной системы (иммунный ответ *in vivo*; пролиферативную активность, продукцию цитокинов спленоцитами и уровень триптофана в этих клетках *in vitro*).
4. Изучить структурно-функциональные показатели нервной системы (морфологическую картину ядер гиппокампа, содержание цитокинов и нейротрофического фактора BDNF в патогенетически значимых для состояния депрессивности структурах головного мозга) сингенных депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином спленоцитов.

### **Научная новизна**

Впервые показано, что ИКК депрессивно-подобных самцов (СВАхС57BL/6)F1, обработанные *in vitro* кофеином, изменяют свои функциональные свойства и после внутривенного введения сингенным депрессивно-подобным реципиентам оказывают выраженное позитивное иммуно- и психонейромодулирующее влияние, воздействуя на основные патогенетические механизмы депрессии.

Впервые установлено, что модулированные *ex vivo* кофеином спленоциты депрессивно-подобных доноров (CBAx57BL/6)F1 вызывают у депрессивно-подобных сингенных реципиентов иммуностимулирующий эффект, проявляющийся в усилении антителобразования в селезенке при системном иммунном ответе и повышении пролиферативной активности спленоцитов.

Впервые показано, что трансплантация прекультивированных с кофеином спленоцитов депрессивно-подобных самцов (CBAx57BL/6)F1 вызывает у депрессивно-подобных сингенных реципиентов снижение катаболизма триптофана в селезенке на фоне снижения продукции спленоцитами провоспалительных (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$ ) и повышения противовоспалительных (ИЛ-10 и ИЛ-4) цитокинов.

Впервые выявлено снижение уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$  в гипоталамусе, ИНФ- $\gamma$  в префронтальной коре, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  в гиппокампе при повышении уровня противовоспалительных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10 в гиппокампе и ИЛ-10 в стриатуме, указывающих на снижение нейровоспаления у депрессивно-подобных реципиентов (CBAx57BL/6)F1 после трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином сингенных спленоцитов.

Впервые выявлено повышение нейрональной площади в CA1 и CA3 полях гиппокампа и уровня BDNF в гиппокампе и префронтальной коре после трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином спленоцитов, свидетельствующее о стимуляции процессов нейропластичности в патогенетически значимых для состояния депрессивности структурах головного мозга.

Впервые установлена возможность редактирования депрессивно-подобного поведения трансплантацией модулированных *ex vivo* кофеином спленоцитов, что проявляется у сингенных депрессивно-подобных реципиентов в снижении ангедонии, выраженном увеличении временных

периодов мобильности при снижении периодов пассивного плавания с исчезновением периодов полной неподвижности в воде в тесте Порсолта, стимуляции моторного и исследовательского компонентов ориентировочно-исследовательского поведения.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Теоретическая значимость работы заключается в расширении представлений о роли ИКК в патогенетических механизмах состояния депрессивности. В результате данной работы показана возможность модулирования функциональной активности иммунной системы (повышение интенсивности гуморального иммунного ответа, пролиферативной активности клеток селезенки, снижение в спленоцитах катаболизма триптофана и изменение продукции ими ряда цитокинов, являющихся биомаркерами антидепрессантной терапии) трансплантацией ИКК с измененной *ex vivo* кофеином функциональной активностью. Выявлена также возможность модулированных кофеином ИКК корректировать депрессивно-подобное поведение, на фоне стимуляции процессов нейропластичности и снижения нейровоспаления в патогенетически значимых для состояния депрессивности структурах головного мозга.

Проблема поиска новых эффективных методов для лечения депрессии, преодоления полной или частичной фармакорезистентности, а также снижения побочного действия применяемых лекарственных препаратов до сих пор остается открытой и очень актуальной, учитывая большое количество пациентов с БДР во всем мире. Полученные результаты могут служить экспериментальным обоснованием разработки новых технологий иммунотерапии депрессивных расстройств аутологичными ИКК с модулированной *ex vivo* психоактивным веществом

функциональной активностью, что и определяет практическую значимость диссертационного исследования. Клеточные технологии, относящиеся к критическим технологиям, основаны на манипуляциях с клетками вне организма, в результате чего клетки приобретают более высокий терапевтический потенциал. Предполагается, что клеточная иммунотерапия будет иметь преимущество по сравнению с лечением фармакологическими препаратами, поскольку терапевтический эффект будет проявляться без необходимости длительного лечения больных и организм не будет подвержен побочным эффектам лекарственных средств. Немаловажным является также тот факт, что вводимые клетки способны к секреции широкого спектра факторов, продуцируемых в физиологических концентрациях и оказывающих регуляторный эффект на функциональную активность обеих адаптационных систем, что абсолютно невозможно выполнить с помощью применения комплекса из отдельных регуляторных молекул, но необходимо для восстановления нарушенного нейроиммунного взаимодействия в терапии социально значимых депрессивных состояний у человека.

Результаты диссертационного исследования используются в учебном процессе при подготовке лекционного материала и проведении научных семинаров для аспирантов и ординаторов, проходящих обучение в НИИФКИ.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Введение модулированных *ex vivo* кофеином иммунокомпетентных клеток является фактором, обуславливающим выраженный иммуностимулирующий эффект на фоне подавления провоспалительной активности при депрессивно-подобном состоянии.

2. Снижение нейровоспаления при введении модулированных *ex vivo* кофеином иммунокомпетентных клеток при депрессивно-подобном состоянии является фактором, обуславливающим стимуляцию процессов нейропластичности (усиление нейрогенеза в гиппокампе и повышение уровня BDNF в гиппокампе и префронтальной коре) и редактирование депрессивно- подобного поведения.

### **Степень достоверности результатов**

Полученные результаты имеют высокий уровень статистической значимости. Научные положения и выводы обоснованы и получены с использованием современных методических приемов и высокоинформативных методов исследования, проведенных *in vivo* и *in vitro*, достаточной выборкой исследуемых экспериментальных животных в соответствии с основными принципами работы с лабораторными живыми объектами и большим объемом материала, который подвергнут адекватному статистическому анализу.

### **Апробация работы**

Результаты диссертационной работы были представлены на следующих научных мероприятиях: II Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов "Современная российская наука глазами молодых исследователей" (Красноярск, 2012); III всероссийская конференция с международным участием «Современные проблемы биологической психиатрии и наркологии» (Томск, 2013); отчетные конференции аспирантов и ординаторов НИИФКИ (Новосибирск, 2014-2016); 10th International Conference on Psychiatry “Psychiatric Models; Biological and Psychological perspectives (Kingdom of

Saudi Arabia, Jeddah, 2014); V International Interdisciplinary Academic Conference "Innovation and Humans" (Turkey, Antalia, 2014); VIII международная научно-практическая конференция «Теоретические и практические аспекты развития научной мысли: медицинские науки, фармацевтические науки, ветеринарные науки, Биологические науки, Химические науки» (Москва, 2015); IX отчетная научная сессия НИИФКИ «Фундаментальные и клинические аспекты иммунологии» (Новосибирск, 2016); VIII International academic conference «Medical, psychological, educational support for people in extreme climatic, ecological and social conditions» (Turkey, Kemer, 2017); XVI Всероссийский научный форум с международным участием имени академика В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2017); World Psychiatric Association's Thematic Congress "Innovation in Psychiatry: Effective Interventions for Health and Society" (Melbourne Australia, 2018); IX International academic conference "Human safety in extreme climate environmental and social conditions" (Turkey, Kemer, 2018); 26th Congress of the European Psychiatric Association (Nice, France, 2018); IV российская конференция с международным участием «Современные проблемы биологической психиатрии и наркологии» (Томск, 2018); Xth International Academic Conference "Human security in extreme climate- ecological & social conditions" (Turkey, Kemer, 2019); 27th European Congress of Psychiatry (Warsaw, Poland, 2019); VII Международный симпозиум «Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии» (Санкт-Петербург, 2019); 28th European Congress of Psychiatry (Madrid, Spain, 2020); Российская конференция с международным участием «Актуальные проблемы нейробиологии психических и аддиктивных расстройств» (Томск, 2020); Конгресс молодых ученых «Актуальные вопросы фундаментальной и клинической медицины» (Томск, 2020); XIth International Academic Conference "Human Safety in Extreme Climate Environmental and Social Conditions" (Turkey, Kemer, 2021); 29th Virtual

European Congress of Psychiatry (Florence, Italy 2021); Юбилейная конференция НИИФКИ, посвященная 40-летию со дня образования (Новосибирск, 2021); 13th International Multiconference on “Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology” – BGRS/SB-2022 (Новосибирск, 2022); 30th European Congress of Psychiatry (EPA Virtual, 2022, Budapest, Hungary, 2022); IX российская конференция с международным участием «Нейроиммунопатология», посвященная 100-летию со дня рождения академика РАМН Г.Н. Крыжановского (Москва 2022).

### **Личный вклад автора**

Результаты, представленные в данной работе, получены лично автором или при его непосредственном участии.

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 40 печатных работ, в том числе 23 статьи (из них 14 в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для публикации материалов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук), 7 публикаций (из них 2 статьи) в журналах международных баз данных Web of Science и Scopus; 1 патент на изобретение.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация оформлена в соответствии с Национальным стандартом Российской Федерации ГОСТ Р7.0.11-2011. Материал диссертации

изложен на 200 страницах машинописного текста, иллюстрирован 30 рисунками и 7 таблицами. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, изложения результатов собственных исследований, обсуждения, заключения и выводов. Библиографический указатель содержит 371 цитируемый источник (в том числе 69 работ отечественных авторов).

## **Глава 2. Обзор литературы**

### **2.1. Депрессия, как социально значимое заболевание**

Депрессивные расстройства являются серьезным клиническим и социально-экономическим бременем для всего мира. По оценкам Всемирной организации здравоохранения [World Health Organization (WHO), 2021], к 2030 году депрессия станет ведущей причиной потери трудоспособности. Из-за гетерогенной природы этого расстройства и отсутствия точных знаний о патофизиологии эффективное лечение является сложной задачей. В этиологии и патогенезе БДР задействованы многие факторы, в том числе генетические и экологические, вклад множества факторов остается не до конца изученным [Irwin et al., 2019; Pitsillou et al., 2020].

Депрессия по номенклатуре DSM-V большое депрессивное расстройство (БДР) или депрессивный эпизод по МКБ-10 - (в легких, средних или тяжелых типичных случаях депрессивных эпизодов) характеризуется пониженным настроением, уменьшением энергичности и снижением активности. Снижена способность переживать положительные эмоции радости и удовольствия при преобладании на определенном отрезке времени тревожного, тоскливого или апатического аффектов [Вертоградова et al., 2012; Алфимова, 2012]. В зависимости от числа и тяжести симптомов депрессивный эпизод может классифицироваться как легкий, умеренно выраженный и тяжелый. Главными аффективными составляющими депрессивного расстройства считаются ангедония (потеря способности испытывать удовольствие) [Tang et al., 2021; Liu et al., 2021; Wang et al., 2021]; апатия, которая характеризуется общим отсутствием

интереса, снижение энергии или усталости, нарушение сна и аппетита; соматический дискомфорт; нарушение концентрации внимания, памяти; чувство вины и низкая самооценка, негативное видение будущего [Perrì et al., 2020; Cruz-Pereira et al., 2020]. У пациентов с БДР наблюдается значительный дефицит психомоторной скорости, внимания (слухового, зрительно-пространственного, устойчивого зрительного внимания) [Wang et al., 2021]. Клинические признаки ассоциированы со структурно-функциональными изменениями в головном мозге пациентов с БДР [Галкин и др., 2020; Зачкова и др., 2021; Xiong et al., 2021; Wang et al., 2021]. Исследования магнитно-резонансной томографии (МРТ) выявили морфологические изменения в таких областях мозга пациентов с БДР, как гиппокамп, гипоталамус, стриатум, префронтальная кора [Trifu et al., 2020; Li et al., 2021; Васенина, 2021; Amidfar et al., 2021; Zheng et al., 2021]. Воспалительные процессы вовлечены в патофизиологию депрессии. Установлено, что нарушение регуляции как врожденной, так и адаптивной иммунной системы происходит у пациентов с БДР и препятствует благоприятному прогнозу, включая ответ на антидепрессанты [Beurel et al., 2020]. Патофизиологические признаки депрессивных симптомов включают истощение моноаминов, повышенные уровни кортикотропин-рилизинг-фактора (КРФ) и кортизола, резистентность глюкокортикоидных рецепторов (ГК), а также избыток глутамата [Seki et al., 2018]. Несмотря на известные фармакотерапевтические подходы от 30 до 60% пациентов с БДР не поддаются лечению, а скорость ремиссии заболевания часто составляет <50%, тогда как частота рецидивов составляет более 85% в течение 10 лет после депрессивного эпизода и в среднем составляет  $\geq 50\%$  в течение 6 месяцев после предполагаемой клинической ремиссии [Petràlia et al., 2020; Roohi et al., 2021]. Депрессия часто коморбидна, т.е. ассоциирована с другими соматическими заболеваниями.

Таким образом, депрессивные расстройства значительно ухудшают качество жизни пациентов, увеличивают процент нетрудоспособности населения и могут приводить к обострению течения соматических и психических патологий. Отсутствие эффективных способов терапии требует поиска и разработки новых подходов к лечению депрессии.

### **2.1.2. Нейроиммунные механизмы развития депрессии**

Существует большое количество данных, которые указывают на тесную взаимную интеграцию нервной, иммунной и эндокринной систем организма, взаимодействие которых играет важную роль в поддержании динамического гомеостаза, а нарушение нейроиммунных взаимодействий является ключевым фактором в развитии депрессии. При БДР нарушается нормальное функционирование иммунной системы - наблюдается угнетение клеточного звена иммунитета, которое рассматривается как постстрессовая иммуносупрессия, это выражается в изменении соотношения экспрессии поверхностных рецепторов и снижении функциональной активности иммунокомпетентных клеток (ИКК). Наиболее часто при депрессии регистрируется снижение количества и функциональной активности натуральных киллеров (NK) [Ветлугина и др., 2017], которое коррелирует с тяжестью психоэмоционального стресса. У пациентов с БДР наблюдается повышение уровня апоптоза лимфоидных клеток. В ряде исследований выявлено нарушение пролиферативной активности лимфоцитов на митогены, повышенное содержание белков острой фазы воспаления в периферической крови, появление маркеров активации лимфоидных клеток, повышение уровня провоспалительных цитокинов, некоторых хемокинов, медиаторов воспаления [Корнева и др., 2017]. Наряду с этим к распространенным иммунологическими нарушениями при БДР относят также: снижение относительного количества Т-супрессоров с соответствующим повышением

иммунорегуляторного индекса, уровней иммуноглобулинов IgM, IgG и IgA классов, а также снижения уровня циркулирующих иммунных комплексов [Ghosh et al., 2020]. Для иммунного статуса больных характерно снижение численности популяций CD3+, CD4+ и значительная активация CD8-лимфоцитов. У пациентов с БДР наблюдается снижение количества Treg, увеличение процента циркулирующих клеток Th17 и соотношения Th17/Treg, указывающих на воспаление, количество Treg отрицательно коррелирует с маркерами воспаления [Ashari et al., 2019; Ghosh et al., 2020].

Для БДР также типичны структурно- функциональные изменения в ЦНС, основными из которых являются нейровоспаление, нейродегенерация, преимущественно наблюдаемая в гиппокампе, нарушение нейрональной активности, изменение нейрохимической установки мозга, активности ГГНО [Zhang et al., 2020; Zhuo et al., 2022], что проявляется, в частности, в формировании характерного поведенческого фенотипа [Fritz et al., 2020; Bian et al., 2021].

Двухсторонний характер нейроиммунных взаимодействий обуславливает тот факт, что вышеуказанные нарушения функциональной активности иммунной и нервной систем индуцируют и поддерживают патологические изменения в каждой из систем, которые отражены в представленных ниже основных гипотезах формирования БДР.

## **2.2. Гипотезы формирования большого депрессивного расстройства**

### **2.2.1. Моноаминовая гипотеза депрессии**

Одной из первых нейробиологических гипотез депрессии была гипотеза дефицита моноаминов, которая постулирует, что дефицит моноаминовых (МА) нейротрансмиттеров, таких как серотонин (5-НТ), норадреналин (НА) и дофамин (ДА), в синаптической щели является

главной и основной причиной депрессии [Perez-Caballero et al., 2019]. Эти МА наиболее распространены в пределах нервной системы. Между системами 5-НТ, НА и ДА, существуют функциональные взаимодействия [Seki et al., 2018]. В частности, системы 5-НТ оказывают негативное влияние на системы НА и ДА через 5-НТ<sub>2А</sub> и 5-НТ<sub>2С</sub> рецептор-опосредованные механизмы, соответственно. С другой стороны, сложные положительные и отрицательные влияния системы НА на нейротрансмиссию 5-НТ опосредуются через  $\alpha_1$ - и  $\alpha_2$ -адренорецепторы [Delcourte, 2021]. Свыше 30% пациентов с депрессией устойчивы к лечению антидепрессантами [Denee et al., 2021]. Депрессия и тревога могут быть проявлением дисфункций систем моноаминов в областях мозга, включая гиппокамп, миндалевидное тело и префронтальную кору [Zhou et al., 2018].

**Серотонин (5-НТ)** диффузно обнаруживается во всем организме, особенно в энтерохромаффинных клетках желудочно-кишечного тракта, в тромбоцитах и в ЦНС. Он синтезируется из незаменимой аминокислоты L -триптофана ферментом триптофангидроксилазой в нейронах, расположенных в ядрах шва ствола мозга [Commons, 2020]. Отростки этих нейронов широко разветвлены и проецируются на области коры переднего мозга, его желудочковую поверхность, мозжечок, спинной мозг и структуры лимбической системы. Снижение 5-НТ в мозге сопровождается депрессивными симптомами, включая депрессивное настроение, самообвинение и критику [Ghaheiri et al., 2022]. Известно, что концентрации 5-НТ в сыворотке крови у пациентов с БДР значительно снижены [Vadodaria et al., 2019]. Выделяют семь семейств 5-НТ рецепторов, данные патологоанатомических исследований показали аномальную функцию рецепторов серотонина 5-НТ<sub>1</sub> (5-НТ<sub>1А</sub>, 5-НТ<sub>1D</sub>) и 5-НТ<sub>2</sub> (5-НТ<sub>2А</sub>, 5-НТ<sub>2С</sub>) в тканях мозга пациентов с БДР, снижение плотности постсинаптических рецепторов 5-НТ<sub>1А</sub> [Liu, Zhao, 2018]. Блокада и действие антагонистов рецепторов 5-НТ<sub>2А</sub> в корковых и

лимбических областях мозга может вызывать снижение регуляции указанных рецепторов, это считается полезным эффектом при лечении БДР [Doolin et al., 2018]. Рецепторы 5-НТ-6, 5-НТ7 представлены в стриатуме, коре, обонятельном бугорке, прилежащем ядре, гиппокампе, гипоталамусе, миндалине. Постнатальное истощение серотонина у лабораторных грызунов вызывает дегенерацию и отек нейронов, значительное снижение количества и плотности нейронов в областях гиппокампа СА1, СА3 и зубчатой извилине что сопровождается нарушением гиппокамп-зависимой пространственной памяти [Ghaheiri et al., 2022]. Модулируя как пролиферацию, так и выживание новообразованных клеток, серотонин является ключевым регулятором нейрогенеза взрослых [Vahid-Ansari et al., 2021] и вместе с нейротрофическим фактором головного мозга (brain-derived neurotrophic factor - BDNF) участвует в антидепрессивных механизмах [Kronenberg et al., 2018]. Так нейровоспаление, вызванное системным введением липополисахарида (ЛПС), снижает уровень серотонина в гиппокампе, это сопровождается депрессивно-подобным фенотипом у крыс [Carabelli et al., 2020]. Повышение уровня серотонина способствует не только улучшению симптоматики БДР, но и связано с иммуномодулирующими эффектами, включая активацию Т-клеток и НК, реакцию гиперчувствительности замедленного типа, выработку хемотаксических факторов и активность макрофагов [Talmon et al., 2018].

**Триптофан**, незаменимая аминокислота, необходимая для синтеза серотонина (5-гидрокситриптамина, 5-НТ), которая поступает в организм человека с пищей. В мозге и на периферии распад триптофана осуществляется через метоксииндольный путь, с образованием серотонина, мелатонина, второй путь-кинурениновый, который начинается с окислительного разрушения индольного кольца триптофана под действием фермента триптофан-2,3-диоксигеназы (ТДО) (в печени) или индоламин-2,3-диоксигеназы (ИДО) и приводит к образованию

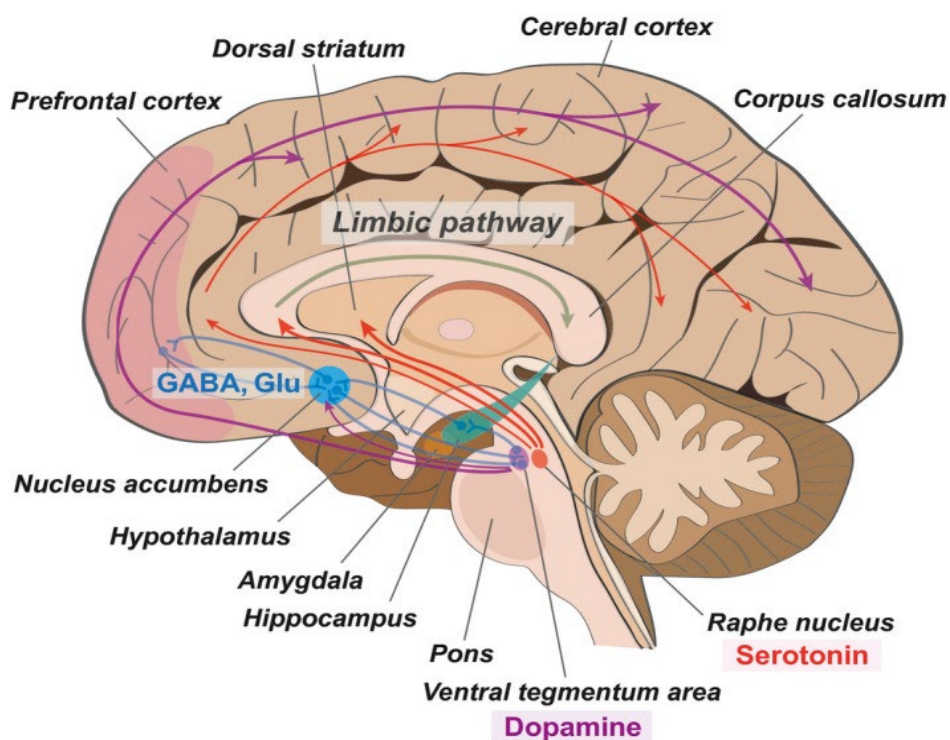
кинуруенина и его метаболитов. Более 90% триптофана, не участвующего в синтезе белков, метаболизируется в печени ТДО с образованием кинуруенина (КИН) [Chen et al., 2021]. Значительная часть кинуруенина поступает в мозг с периферии. Часть нейронов экспрессируют ИДО и/или ТДО, триптофан метаболизируется в мозге в микроглии или астроциях [Garrison et al., 2018]. Хронический стресс или воспаление усиливают метаболизм триптофана по кинуруениновому пути (КП), а образование нейроактивных метаболитов кинуруенина способствует формированию и поддержанию депрессивного поведения. КП вовлечен в патогенез депрессии и ассоциирован с выраженностью ее симптомов [Петрова и др., 2018; Muneer, 2020]. ИДО играет роль связующего звена между воспалением и нейротоксичной ветвью ферментативных реакций КП. Распад триптофана по КП идет в ЦНС, крови и лимфоидных тканях. При воспалительных процессах, усилении продукции глюкокортикоидов происходит активация экспрессии ТДО и ИДО, в таких органах, как легкие, плацента, почки, селезенка, кровь, а также в мозге, поэтому внепеченочный метаболизм триптофана становится преобладающим над метаболизмом триптофана в печени [Savitz, 2020]. Это приводит к повышению образования кинуруенина [Zhou et al., 2020]. КИН далее метаболизируется в несколько основных метаболитов: нейротоксичный 3-гидроксикинуруенин (3-НК) и хинолиновая кислота (ХИН), а также кинуруениновая кислота (КИНА), блокатор рецепторов N-метил-D-аспартата (NMDA), последняя обладает нейропротекторным действием [Tanaka et al., 2020, 2021]. При активации макрофагов, связанной с воспалением, они повышенно вырабатывают ХИН, что способствует ее накоплению в ГМ, тем самым опосредует эксайтотоксичность и нейродегенеративные изменения. Цереброспинальная концентрация ХИН коррелирует с уровнем ИЛ-6 [Messaoud et al., 2021]. Имеется прямая зависимость между уровнем КИНА, триптофана и кинуруенина у пациентов с депрессией и объемом гиппокампа и миндалевидного тела [Chen et al.,

2021]. При депрессии происходит снижение концентрации и биодоступности триптофана [Dantzer et al., 2018; Messaoud et al., 2021]. У пациентов с депрессией, проходящих терапию интерфероном, гамма (ИНФ- $\gamma$ ), в периферической крови был снижен уровень триптофана, серотонина и повышен уровень кинуренина [Marx et al., 2021].

**Дофамин (ДА)** нейротрансмиттер, который в ЦНС широко распространен в гипоталамусе и гипофизе, играет роль в модуляции человеческих эмоций, скорости психомоторных реакций [Schuster et al., 2022]. Дофаминергическая система также участвует в реализации моторных функций [Klein et al., 2019]. Дофаминовые рецепторы относятся к классу метаботропных, описаны пять типов ( $D_1$ ,  $D_2$ ,  $D_3$ ,  $D_4$ ,  $D_5$ ). Существует ряд данных, свидетельствующих о дисфункции ДА- и/или ДА-рецепторов у пациентов с БДР. У пациентов с депрессией регистрируется сниженный уровень метаболитов ДА в спинномозговой жидкости по сравнению со здоровым контролем [Athira et al., 2020]. Нейротрансмиттеры, ДА и норадреналин (НА) принадлежат к группе катехоламинов и синтезируются из аминокислоты L-тирозин. Дофамин является предшественником норадреналина.

**Норадреналин (НА).** Снижение НА в ЦНС связано с отсутствием способности испытывать удовольствие, интерес, ощущения счастья, энергии, потери уверенности у людей с БДР [Wang et al., 2022]. НА система модулирует реакцию на стресс, главным образом, посредством активации симпатической нервной системы и стимулирования высвобождения адреналина из мозгового вещества надпочечников. Исследования выявили повышенное связывание агонистических лигандов с  $\alpha_2$ -адренергическими ауторецепторами на теле НА нейронов, это указывает на значимые функции ауторецепторов НА и, таким образом, предполагает снижение норадренергической нейротрансмиссии при БДР [Serna-Rodríguez et al., 2022]. Вероятно, этот эффект связан с нарушением АТФ-зависимого

депонирования НА и других катехоламинов, вследствие чего они спонтанно выбрасываются в синаптическую щель [Дубинина и др., 2021].



Примечание:

Красные стрелки указывают путь серотонина, фиолетовые стрелки указывают путь дофамина. Синие линии показывают нейронную связь между различными областями мозга.

Рисунок 1 - Пути нейротрансмиттеров и нейронные связи между различными областями мозга при депрессии (по Song et al., 2021).

Фермент, катализирующий окислительное дезаминирование биогенных аминов, в том числе ДА, НА, 5-НТ- моноаминооксидаза (МАО). У пациентов с БДР, не получавших лечение антидепрессантами, регистрировалось (с использованием позитронной эмиссионной томографии- ПЭТ) повышение плотности МАО-А, отображающее повышенную активность указанного фермента в различных отделах ГМ, такое изменение, в свою очередь, связано со снижением концентрации моноаминов [Aksoz et al., 2020].

Безусловно, что моноамины играют роль в формировании депрессивного расстройства, тем ни менее снижение вышеописанных

нейромедиаторов не является единственным механизмом развития БДР. Показана причастность ГАМК и глутаматергической системы к депрессивным расстройствам.

**Глутамат и гамма-аминомасляная кислота (ГАМК)** - нейротрансмиттеры, вносят вклад во взаимодействия между прилежащим ядром и префронтальной корой. Глутамат является основным возбуждающим нейротрансмиттером, высвобождаемым синапсами головного мозга; он участвует в синаптической пластичности, когнитивных процессах, процессах вознаграждения и формирования эмоций. Подавляющее большинство нейронов и синапсов в областях мозга и цепях, опосредующих сложное когнитивно-эмоциональное поведение, используют глутамат в качестве нейромедиатора [Demchenko et al., 2022]. При стрессовой реакции посредством нейропептидов усиливается глутаматная нейротрансмиссия, что наблюдается при депрессии [Жалсрай, 2019]. Хронический стресс может вызывать пресинаптическую секрецию глутамата нейронами, для активации сигнальных путей глутамат прочно связывается с ионотропными рецепторами глутамата (iGluR), включая рецепторы NMDAR и  $\alpha$ -амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазол-пропионовую кислоту рецепторы (AMPA) [Samojedny et al., 2022] на постсинаптической мембране. Повышение уровня глутамата было отмечено в периферической крови, спинномозговой жидкости и головном мозге пациентов с депрессией, а также нарушении NMDAR (участвует в модуляции долговременной потенциации, которая является нейронной основой памяти) в ГМ [Margină et al., 2020]. Данные электрофизиологического исследования, проведенного на мышах с депрессивно-подобным расстройством, показали, что усиление глутаматергической передачи зависит от циркулирующих провоспалительных цитокинов, таких как ФНО- $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$ . Чрезмерное высвобождение глутамата, опосредованное продукцией активированными лимфоцитами цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , вызывает потерю синаптической

ингибиторной передачи в гиппокампе, полосатом теле и мозжечке и ассоциировано с такими поведенческими симптомами как потеря памяти и пространственная дезориентация [Benedetti et al., 2021].

ГАМК является основным тормозным нейротрансмиттером. ГАМКергические нейроны в ГМ составляют небольшую долю по сравнению с глутаматергическими нейронами. Ряд исследований показал, что у пациентов с депрессией имеются нейротрансмиссионные или функциональные дефекты ГАМК. Уровень ГАМК в ГМ у пациентов с БДР (по результатам МРТ) снижен. Существует связь между серотонином и ГАМК, снижение уровня серотонина способствует снижению уровня ГАМК [Belleau et al., 2019]. Известно действие кетамина, который через модуляцию глутаматергической системы проявляет антидепрессантные эффекты [Demchenko et al., 2022].

Эти результаты убедительно свидетельствуют о том, что нарушение баланса моноаминов и нейротрансмиттеров только частично участвуют в развитии депрессии [Шадрина et al., 2018; Polityńska et al., 2022]. К ограничениям моноаминовой гипотезы можно отнести невозможность объяснить отсроченный эффект антидепрессантов; часть препаратов, нацеленных на модуляцию систем моноаминов, не реализуют антидепрессивный эффект; снижение уровня моноаминов не вызывает депрессию у здоровых людей.

### **2.2.2. Роль стресса в развитии депрессии. Гипотеза нарушения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси**

Симпатическая нервная система и ось гипоталамус-гипофиз-надпочечники (ГГНО) активно участвуют в реакции на стресс. Стресс вызывает множество физиологических и поведенческих реакций в организме с целью поддержания гомеостаза. Социальный стресс

представляет собой важный тип несчастья у многих видов и, как полагают, играет важную роль в развитии депрессивных расстройств. Хронический стресс является основным этиологическим фактором возникновения депрессии [da Silva et al., 2020]. Норадренергические нейроны могут участвовать в стимуляции оси ГГНО. Это действие может быть следствием непосредственной иннервации паравентрикулярного ядра (ПВЯ), гипоталамуса, или косвенно, через влияние НА на лимбические структуры, которые, в свою очередь, сами активируют ГГНО [Seki et al., 2018]. При активации ПВЯ гипоталамуса секретируются аргинин-вазопрессин и кортикотропин-рилизинг-фактор (КРФ), которые, в свою очередь, вызывают секрецию адренокортикотропного гормона (АКТГ) в передней доле гипофиза. Как следствие, АКТГ индуцирует производство и секрецию минералокортикоидов и глюкокортикоидов (кортикостерон у грызунов, кортизол у человека) из коры надпочечников в кровоток. Также цитокины способствуют значительной активации ГГНО, непосредственно вызывая гиперкортизолемию и опосредованно, через изменение чувствительности глюкокортикоидных рецепторов (ГР) к кортизолу, что способствует его гиперсекреции. Множественно ГР экспрессируются в ПВЯ, гиппокампе, миндалевидном теле, фронтальной коре [de Kloet et al., 2019], они принимают участие в поведенческой адаптации и консолидации памяти. Воздействие хронического стресса или экзогенного кортикостерона приводит к ремоделированию нейронов в ключевых областях мозга, связанных с депрессией [Kinlein et al., 2019]. Также ГР присутствуют в кишечнике, на иммунных клетках [Шишкина, Дыгало, 2016]. Существующая схема взаимодействий ГГНО с иммунной системой включает в себя глюкокортикоидное потенцирование компонентов врожденного иммунитета и подавление адаптивных иммунных реакций [Mueller et al., 2022]. Клетки иммунной системы экспрессируют ГР в определенном состоянии активации, что позволяет глюкокортикоидам напрямую влиять на процессы иммунного гомеостаза. Рецептор-

опосредованное действие глюкокортикоидов сопровождается изменением экспрессии ряда генов, посредством связывания с определенными последовательностями ДНК при участии факторов транскрипции NFκB, AP1, STAT3, STAT5, что способствует снижению уровня активации провоспалительных транскрипционных факторов и внутриклеточных сигнальных путей или усилению экспрессии/продукции противовоспалительных цитокинов, способствуя снижению провоспалительного ответа [Rossetti, 2019]. Кроме того, рецептор-опосредованное влияние глюкокортикоидов регулирует также активацию NLRP3, NOD-подобного рецептора, стимулирующего продукцию ИЛ-1β [Feng et al., 2019]. Глюкокортикоиды участвуют в регуляции большого спектра функций ИКК: изменение экспрессии генов цитокинов, молекул адгезии, экспрессии хемокинов, которые, в свою очередь, влияют на миграцию клеток, процессы созревания и дифференцировки ИКК, и др. [Todosenko, 2017]. Глюкокортикоиды оказывают преимущественно супрессивное действие на созревание, дифференцировку, и пролиферацию ИКК, что сопровождается количественным уменьшением В-лимфоцитов и снижением уровня продукции антител, что показано у пациентов с БДР и на моделях депрессии [Ahmetspahic et al., 2018; Lynall et al., 2021]. Высокие уровни кортизола ингибируют дальнейшее высвобождение АКТГ и КРФ через механизм отрицательной обратной связи. Это приводит к возвращению к физиологическому состоянию после активации системы.

Минералокортикоидные рецепторы (MR) в лимбических областях распространены в пирамидных нейронах гиппокампа, зубчатой извилине, миндалевидном теле, мозжечке и корковых областях [Nguyen et al., 2018]. Экспрессия MR снижена в гиппокампе, поясной извилине у пациентов с БДР. В доклинических исследованиях показана роль MR на долговременную потенцию, при этом антагонисты MR ингибируют этот процесс. Результаты на трансгенных мышах с гиперэкспрессией MR

продемонстрировали улучшение пространственной памяти [Wang et al., 2021].

Объединяя вышепредставленные данные можно сказать, что нарушения ГГНО играют значимую роль в развитии БДР. ГГНО контролирует реализацию реакций на стрессовые воздействия, при значительных повреждениях функционирования последней могут развиваться серьезные психические нарушения, способные выступать в качестве триггеров развития депрессии.

### **2.2.3. Генетическая гипотеза депрессии**

В некоторых случаях генетические факторы могут способствовать или быть причиной возникновения депрессии. Недавний полногеномный ассоциативный анализ выявил участие более 150 генов в этиологии депрессии, любой из которых может иметь более конкретное отношение к социальным процессам [Ray et al., 2018]. Стрессовые события окружающей среды вызывают изменения в экспрессии генов. Воздействие факторов внешней среды в сочетании с ролью генов обозначаются как эпигенетические, они могут приводить к изменению структуры хроматина, тем самым регулируя экспрессию генов, участвующих в депрессии [Li et al., 2021]. Некоторые мутации и полиморфизмы могут влиять на реакцию рецепторов на нейротрансмиттеры или биологически активные вещества; это, в свою очередь, может влиять на устойчивость химического баланса мозга к стрессорам. Сегодня многие исследования по изучению генетического вклада в БДР основаны на поиске генов-кандидатов [Norkeviciene et al., 2022]. К группам нарушений, связанных с генами, относят такие как метилирование ДНК, изменения гистонов, изменение регуляции некодирующих участков РНК. Среди наиболее изученных изменений генов выделяют: полиморфизм промотора переносчика серотонина (5-HTTLPR) и функциональный однонуклеотидный

полиморфизм (SNP) в гене FK506, связывающего белок 51 (FKBP5), ФНО- $\alpha$ . Каспи и его коллеги первыми оценили эффекты 5-HTTLPR на БДР, показав, что люди с коротким аллелем 5-HTTLPR имели повышенный риск развития депрессии по сравнению с гомозиготными людьми или людьми с гомозиготными длинными аллелями [Платонкина и др., 2018; Zhao et al., 2021]. Также среди генетических предикторов возникновения БДР исследованы гены: серотонинового транспортера (SLC6A4), КРФ-1, рецептора дофамина (DRD4), алипопротеина E (APOE  $\epsilon$ 2 and APOE  $\epsilon$ 4), гуанин нуклеотид-связывающий белок, моноаминоксидазы A (MAOA), катехол-о-метилтрансферазы (COMT) и проч. [Saavedra et al., 2016]. Изучение однонуклеотидных полиморфизмов (SNP), в гене OXTR, триптофангидроксилазе 2 (TPH2) [Liu et al., 2022] и их связь с депрессией. Однако до сих пор полностью не определено, какие гены или области ядерной или митохондриальной ДНК или какие типы генетических изменений, по отдельности или в комбинации, могут быть генетическими маркерами депрессии. Воздействие повторяющихся средовых стрессоров (в том числе психосоциальных) способно повышать риск депрессии или вызывать депрессивные симптомы у людей [Fu, et al., 2021]. Выявление причинных локусов психических расстройств является сложной задачей, требует набора большой репрезентативной выборки с учетом множества факторов: возраст, пол, социокультурные и экологические, особенности личности и прочие. [Menezes et al., 2019]. Это в значительной степени ограничивает интерпретацию результатов, полученных на генномодифицированных моделях животных при исследовании генетически обусловленных причин депрессивно-подобного расстройства.

#### **2.2.4. Нейродегенеративная гипотеза депрессии**

Эта гипотеза объясняет взаимосвязи факторов возникновения различных когнитивных нарушений при депрессии, вызванных

хроническим психологическим стрессом, происходящих на фоне атрофических и нейродегенеративных изменений в головном мозге. Она связывает множество процессов, характерных для патогенеза БДР, в частности, воспаление, нейровоспаление, нейрогенез, апоптоз, ремоделирование нейронов, изменение уровней нейротрофинов [Bauer, 2021].

В ряде исследований установлено, что БДР коррелирует с нарушениями функций иммунной системы у людей [Беккер, Быков, 2016; Danzer, 2018; Maes et al., 2020] и животных [Кудрявцева, 2017, Idova et al., 2018]. Воспаление является ключевым патогенетическим фактором широкого спектра неврологических и психических заболеваний. Периферические провоспалительные цитокины, такие как, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-3, ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$  и проч., могут пересекать ГЭБ (проницаемость которого повышается в условиях хронического стресса, воспаления) и влиять на морфофункциональное состояние ряда структур ГМ, тем самым, воздействовать на поведение [Dion-Albert et al., 2019; Lehmann et al., 2020; Serna-Rodríguez et al., 2022]. Не только цитокины, но и их продуценты-ИКК могут преодолевать ГЭБ. В физиологических условиях периферические иммунные клетки присутствуют в ткани ГМ, где они участвуют в некоторых когнитивных процессах, исследуют ЦНС на наличие патогенов или повреждение тканей [Zarif et al., 2018; Rua et al., 2019]. При нейровоспалении, характерном для БДР, трафик клеток в ГМ возрастает. Так, например, лимфоциты накапливаются в периваскулярных пространствах при рекрутировании в ЦНС в ответ на изменение уровней хемокинов [Dantzer, 2018; Trifu et al., 2020]. На моделях депрессии было зарегистрировано значительное увеличение количества Т-клеток в ткани ГМ, сконцентрированных, в основном, в области серого вещества. Количество CD8<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в ГМ отрицательно коррелирует с когнитивными функциями. CD8<sup>+</sup> Т-лимфоциты представляют собой активированные клетки, которые, через продукцию

воспалительных молекул или путем прямого контакта, могут повреждать нейроны, что в дальнейшем приводит к дисфункции последних [Zhou, et al., 2022]. Т-клетки накапливаются в ГМ, сосудистом сплетении (после стрессового воздействия), менингеальных пространствах и спинномозговой жидкости в ответ на сигналы, запускаемые ЦНС [Morris et al., 2016; Bar, Barak, 2019]. Тучные клетки участвуют в регуляции иммунного ответа и поддержке гомеостаза, при состояниях депрессивности их концентрации в ГМ повышаются, способствуя развитию нейровоспаления [Dudek et al., 2021]. Нейроны регулируют функцию микроглии при участии растворимых факторов, включая хемокины, цитокины и нейротрансмиттеры (CX3CL1, TGF $\beta$ , CSF1, UDP, АТФ, глутамат, ГАМК, НА) [Illes et al., 2020]. В ответ на стресс микроглия претерпевает динамические изменения в морфологии и функции, в том числе в кортиколимбических областях, опосредующих появление депрессивно-подобных симптомов. Активированная микроглия приводит к усилению регуляции провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6, простагландины, оксид азота и глутамат. Одновременно с этим, микроглия способствует высвобождению интрацеребральных цитокинов, рекрутируя высвобождающие ИЛ-1 $\beta$  моноциты [McKim et al., 2018]. При множественной активации микроглии в процесс нейровоспаления вовлекаются астроциты [Marino et al., 2022]. Астроциты и микроглия способствуют активации NF- $\kappa$ B, что усиливает транскрипцию генов, кодирующих семейство цитокинов ИЛ-1, которые, в свою очередь, инициируют синтез вторичных провоспалительных цитокинов как собственными клетками, так и астроцитами [Симбирцев, Тотолян, 2015]. Гиперактивация иммунного ответа ухудшает выживаемость и дифференцировку клеток-предшественников нейронов, вместе с нарушением содержания 5-НТ и BDNF в ГМ [Turkin, 2021]. Такие события, как активация микроглии, инфильтрация периферических моноцитов, наряду с примированными Т-клетками в ЦНС, являются

ключевыми нейровоспалительными детерминантами в патофизиологии БДР, участвующими в функциональных и морфологических изменениях нейронов [Sarno et al., 2022].

Нейроморфологические и нейровизуализационные исследования головного мозга выявили у пациентов с БДР уменьшение объема гиппокампа, префронтальной коры, коры больших полушарий, изменение объемов базальных ганглиев [Галкин, и др., 2020; Amidfar, et al., 2021; Silva, et al., 2021].

Воспалительная дисрегуляция механизмов, ответственных за синаптический гомеостаз, может приводить в конечном итоге к дисфункции областей мозга, участвующих в контроле настроения [Acharjee et al., 2018].

#### **Патогенетически значимые для состояния депрессивности структуры головного мозга**

Депрессивные расстройства и когнитивные нарушения могут быть проявлениями общих структурных, биохимических и нейрофизиологических изменений в ЦНС [Табеева, 2018]. Изменение структур мозга могут отражать нейробиологические механизмы, лежащие в основе признаков БДР. У таких пациентов среди значимых признаков выявляются структурно-функциональные изменения, которые влияют на когнитивный дефицит [Wang et al., 2022] можно выделить изменения метаболических показателей префронтальных и лимбических областей, снижение объема серого вещества в теменно-височных областях, изменения функциональной активности височных областей и мозжечка [Табеева, 2018]. По данным метаанализов в патогенезе БДР значимыми являются изменения в таких структурах мозга, как миндалевидное тело, гиппокамп, префронтальная кора, гипоталамус, стриатум [Галкин, и др., 2020; Silva, et al., 2021]. Структурные изменения при БДР варьируют от общих объемных изменений вышеперечисленных областей мозга, которые участвуют в формировании высших психических функций, до изменений,

происходящих на клеточном уровне [Галкин и др., 2020; Зачкова и др., 2021]. Реорганизация нейронов этих областей мозга влияет на уровень церебральной микроциркуляции и контроль возбудимости, это отражается в потере взаимодействия глии с нейронами, количестве синапсов и регуляции нейротрансмиттеров, особенно моноаминов [Cathomas, et al., 2019; Lessa et al., 2022]. Изменение структур лимбической системы мозга приводит к изменениям их функций, отражением которых являются эмоциональные реакции.

**Префронтальная кора** - участвует в формировании самых разных психических процессов, отвечает за реализацию сложных когнитивных и поведенческих функций, кратковременную память, принятие решений и инициативы, эмоций, оценивания обстановки и принятия решений, чувство такта, контроль импульсов и абстрактное мышление. У пациентов с БДР наблюдается гипофункция и снижение объема серого вещества префронтальной коры [Васенина, 2021; Zhang et al., 2022], считается, что эти изменения связаны с неблагоприятными клиническими исходами [Czhan et al., 2018]. Исследования на моделях депрессивно-подобного состояния показали повышенную экспрессию ГР в префронтальной коре [Zhou et al., 2020].

**Стриатум** - полосатое тело (состоящее из скорлупы, хвостатого и вентрального полосатого тела) является важной частью базальных ганглиев и играет роль в моторном и когнитивном контроле, социальном обучении и обработке вознаграждения. Нейровизуализация ГМ у пациентов с БДР позволяла выявить значительные метаболические нарушения и снижение объема серого вещества в стриатуме [Zheng et al., 2021]. Кроме того, морфофункциональные нарушения стриатума могут опосредовать импульсивное и суицидальное поведение у указанных пациентов [Czhan et al., 2018].

**Гипоталамус.** Нейросекреторные ядра гипоталамуса участвуют в регуляции нейроэндокринной деятельности мозга, гомеостазе организма

[Ancelin et al., 2019]. Он связан нервными путями с большинством отделов ЦНС, в том числе с гиппокампом, миндалиной, префронтальной корой. Гипофиз и гипоталамус составляют гипоталамо-гипофизарную систему, при этом гипоталамус регулирует выделение гипофизом гормонов, связывая нервную и эндокринную системы. Гипоталамус является местом консолидации сенсорной информации, участвует в контроле эмоции, памяти. По данным исследований нейровизуализации и изучения посмертных образцов мозга пациентов с БДР обнаружено значительное уменьшение объема и изменение формы гипоталамуса [Ancelin et al., 2019; Li et al., 2021].

**Миндалина** является частью лимбической системы и относится к подкорковым обонятельным центрам. Принимает участие в эмоциональной обработке, формировании тревоги, агрессии, чувства страха, а также в реализации социального поведения [Takahashi et al., 2017]. По данным ряда исследователей, у пациентов с БДР был значительно снижен объем миндалевидного тела [Trifu et al., 2020; Roddy et al., 2021]. Существует также ряд исследований, показывающий отсутствие изменения объемов этой структуры, что делает ее менее надежным биомаркером при изучении изменений ГМ при БДР [Paul et al., 2016].

**Гиппокамп** является одной из наиболее чувствительных структур головного мозга к воздействиям гормонов стресса, изменению уровня нейромедиаторов и цитокинов. Он связан с пространственной ориентацией, играет ключевую роль в процессах обучения и памяти. Гиппокамп «фильтрует и фиксирует» эмоционально значимые события [Fu, Fan, 2020]. Он анатомически и физиологически связан с гипоталамусом, имеет множество рецепторов кортикостероидов. Повышенный уровень стероидного гормона надпочечников, активация нисходящих рецепторов N-метил-D-аспартата (NMDA) и снижение уровня нейротрофического фактора головного мозга BDNF являются медиаторами хронической стресс-индуцированной потери объема гиппокампа [Trifu et

al., 2020; Liu et al., 2021]. Атрофия нейронов гиппокампа ухудшает его способность регулировать активность ГГНО [Экова, 2017]. Показано, что чрезмерное воздействие глюкокортикоидов ухудшает функции гиппокампа на различных уровнях нервной организации, вызывает уменьшение количества и плотности нейронов в этой структуре, что сопровождается нарушением механизмов синаптической пластичности, изменением нейрохимии, нейрогенеза, морфологии и апоптоза нейронов этой области, и в дальнейшем опосредует когнитивные нарушения. Объем гиппокампа уменьшается после дебюта заболевания, это подчеркивает важность раннего выявления и лечения когнитивных нарушений при депрессии. У пациентов с БДР зарегистрирована обратная корреляция уровня ИЛ-6 и объема гиппокампа [Roohi et al., 2021], а также снижение плотности нейронов некоторых его регионов [Doolin et al., 2018]. У пациентов с хроническим течением БДР отмечено снижение объема CA1 региона гиппокампа [Roddy et al., 2019]. Гиппокамп чувствителен к нейровоспалению, которое опосредовано провоспалительными цитокинами ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, фактором некроза опухоли (ФНО- $\alpha$ ), хемокинами (CCL2, CCL5, CXCL1), активными формами кислорода (АФК), реактивной формой азота (RNS), перекиси водорода, оксида азота (NO) и простагландинами [Maes et al., 2019]. Эти воспалительные факторы продуцируются глией (микроглией и астроцитами), эндотелиальными клетками и периферическими иммунными клетками.

Нейропластичность является основой регенерации и замещения функций, нарушенных при некоторых неврологических патологиях, в том числе при депрессии. Термин «нейропластичность» был введен польским нейрофизиологом Ежи Конорским, который указал на феномен синаптического прунинга как постоянного процесса разрушения и создания соединений между нейронами. Нейропластичность представляет собой способность нервной ткани к структурно-функциональной перестройке как в нормальных физиологических условиях (участие в

процессах памяти, обучения, освоения новых навыков), так и при повреждениях. Зависимая от опыта нейронная пластичность приводит к длительным адаптациям и модификациям синаптической структуры и функций, которые необходимы для регуляции экспрессии генов [Innocenti, 2022]. Нейропластичность тесно связана с синаптогенезом и элиминацией синапсов, нейрогенезом и апоптозом. Снижение процессов нейропластичности приводит к усилению процессов элиминации нейронов через апоптоз [Maes et al., 2019; Di Cristo et al., 2020]. Из большого количества нейронных клеток-предшественников, продуцируемых во взрослом мозге, очень небольшое количество новых нейронов интегрируются в гиппокамп [Kandasamy, Aigner, 2018]. Нейрогенез является одним из ведущих механизмов нейропластичности и определяется как способность генерации нервных клеток, включая глиальные. Выделяют три стадии нейрогенеза: стадия клеточной пролиферации, миграции, дифференциации, в результате прохождения этих стадий происходит созревание нейрона или нейроглии, нейрон в дальнейшем интегрируется в нейрональную сеть [Добрынина, Лагода, 2018]. Нейрогенез у взрослых был обнаружен в мозжечке, префронтальной коре, миндалевидном теле, гипоталамусе, гиппокампе и стриатуме [Kandasam, et al., 2018; Trifu et al., 2020]. Подавление нейрогенеза может привести к нарушению реакции на антидепрессанты при депрессии [Park, 2019]. Доказательство вклада нарушений процессов нейрональной пластичности в патогенез депрессии дало основание некоторым авторам признать БДР умеренно выраженным нейродегенеративным заболеванием [Leonard, 2018.] В настоящее время считается, что перспективы для лечения нервно-психических заболеваний заключаются в воздействии на гиппокамп [Paul et al., 2016].

**Нейротрофические факторы** были впервые идентифицированы как критические регуляторы клеточной пролиферации, миграции, созревания и выживания во время развития, но также экспрессируются во взрослом

мозге, где они участвуют в синаптической пластичности, функции нейронов и их выживании. Свои эффекты они реализуют аутокринно, паракринно и эндокринно [Xu et al., 2020; Remes et al., 2021]. Их главная роль - это регуляция нейрогенеза, нейропластичности, защита клеток от окислительного стресса и апоптоза, стимуляция трансформации прогениторных и стволовых клеток как механизма заместительной репарации [Linz et al., 2019]. Нейротрофические факторы являются важными индикаторами для оценки нейропластичности. Многие нейротрофины, такие как BDNF, VEGF, NGF, FGF-2, нейротрофический фактор глии (GDNF), NT-3 вовлечены в регуляцию эмоционального состояния и психических патологий [Xu et al., 2020]. Наиболее хорошо исследована связь депрессивных расстройств BDNF, он играет ключевую роль в регуляции синапсов, долговременной потенциации нейронов гиппокампа и нейрогенезе. У взрослых людей снижение нейрогенеза напрямую коррелирует с тяжестью депрессивного расстройства [Carli et al., 2021].

BDNF в норме поддерживает жизнеспособность нейронов ГМ, напрямую связан с процессами нейропластичности, включая рост аксонов, увеличение числа синапсов и выживание клеток, участвует в процессах консолидации памяти, роста, регулирует процессы апоптоза [Wang et al., 2022]. В норме в ЦНС тканевые факторы роста и баланс цитокинов поддерживают микроглию в состоянии покоя. Активные нейроны продуцируют нейротрофины (NGF, BDNF, NT-3), которые предотвращают экспрессию иммунных молекул в клетках глии. Содержание BDNF снижается под воздействием хронического стресса и глюкокортикоидов [Eliwa et al., 2021; Duman et al., 2021; Wang et al., 2021]. Ген BDNF индуцируется белком, связывающим элемент ответа цАМФ (CREB), который связывается с последовательностями ДНК и регулирует транскрипцию гена BDNF [Bjorkholm, Monteggia, 2018]. Первоначальный транскрипт транслируется в пре-проBDNF, который затем подвергается

дальнейшему процессингу и расщеплению до проBDNF, а затем до зрелого BDNF, который связывается с рецептором нейротрофина p75 (p75NTR) и рецептором тирозинкиназы TrkB, соответственно, для активации различных сигнальных путей [Tacke et al., 2022]. При снижении передачи сигналов BDNF-TrkB наблюдается уменьшение объема префронтальной коры и гиппокампа у пациентов с БДР [Trifu et al., 2020; Liu et al., 2021], а также синаптическая потеря у людей [Xu et al., 2020; Duman et al., 2021]. GDNF- необходимый фактор для нормального развития мозга в процессе эмбрионального развития, он способствует выживанию и дифференцировке различных популяций нейронов. В большей степени GDNF регулирует дофаминергическую систему, также взаимодействует с серотонинергической системой мозга. А именно, стимулирует рост 5-НТ-нейронов мозга, оказывает влияние на экспрессию ключевых генов серотонинергической системы мозга - триптофангидроксилазы-2, 5-НТ1А- и 5-НТ2А-рецепторов, играет роль в регуляции разнообразных форм поведения, нейроэндокринной регуляции, регуляции активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [Левчук, 2018].

Процессы нарушения нейрогенеза при депрессии происходят на фоне изменения функционирования иммунной системы, гормонального и окислительно-восстановительного статусов организма, которые являются предикторами нарушения психических функций при депрессии.

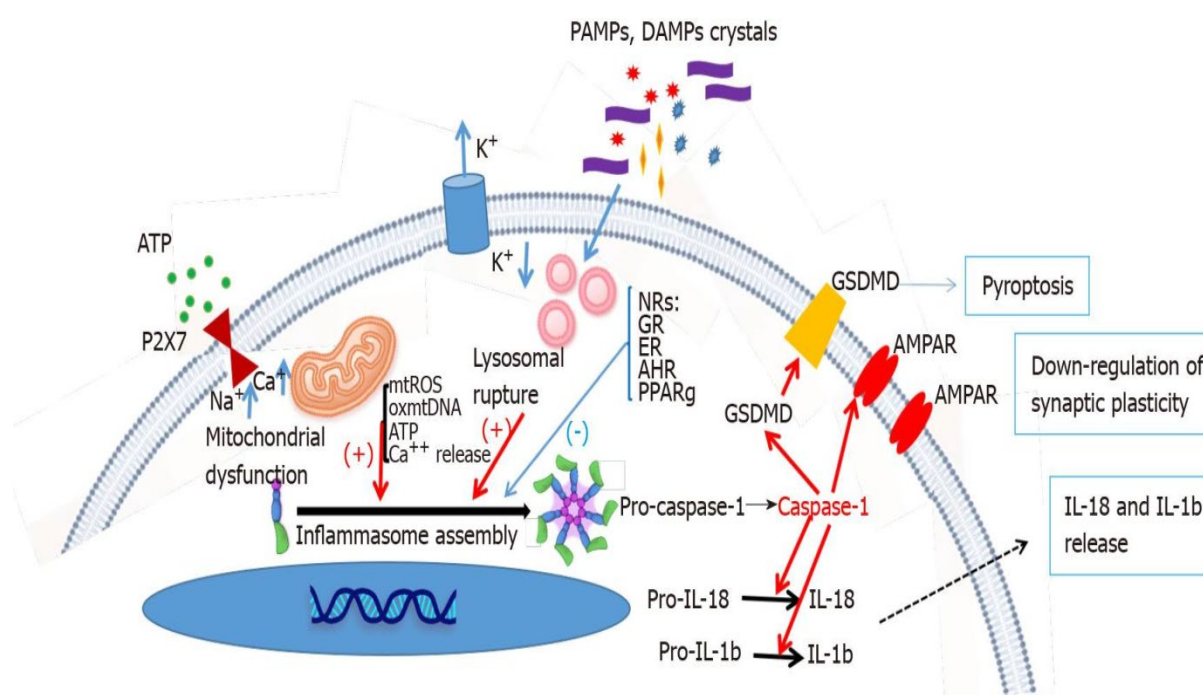
#### **2.2.5. Инфламмасомная гипотеза депрессии. Роль Толл-подобных рецепторов в активации инфламмасомы**

Инфламмасома - мультибелковый цитозольный комплекс, имеющий сенсорные молекулы, связанные с каспазой- 1 через ASC (адапторный белок PYCARD). ASC состоит из двух доменов: пиринового (pyrin domain) и активирующего и усиливающего каспазного (caspase activation and recruitment domain - CARD). Пириновым доменом ASC связан с

основанием инфламмасомы, а посредством CARD белок способствует активации каспазы-1, которая активирует про-интерлейкин-1 $\beta$  и про-интерлейкин-18 [Mata-Martínez et al., 2022]. Высвобождение ассоциированных с повреждениями молекулярных паттернов (которое также возможно при стрессовых реакциях, когда индивид подвергается социальной оценке, отвержению, изоляции, исключению или конфликту, возможно, из-за потенциально физически вредного значения таких социальных ситуаций), индуцируют транскрипционную регуляцию ряда генов цитокинов, таких как ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-18, ИЛ-33 и ФНО- $\alpha$ .

Сборка инфламмасом может происходить в клетках разных типов: макрофагах, нейтрофилах, моноцитах и микроглии, а также в астроцитах, олигодендроцитах и нейронах, это приводит к созданию провоспалительной среды в ГМ и на периферии, а также к активации афферентных нервов, что, в свою очередь, приводит к *de novo* продукции провоспалительных цитокинов, в том числе при депрессивном состоянии [Inserra et al., 2019]. Большинство инфламмасом, помимо белка ASC, содержат NOD-подобные рецепторы, названные NLRP (NOD-like receptor protein), описаны также *rig-1*-подобные рецепторы (RLR), эти семейства врожденных рецепторов связываются с TLR-рецептором и выступают ключевыми сенсорами патогенов [Bartok et al., 2020]. Формированию инфламмасомы предшествует активация специализированных клеточных механизмов, прежде всего, рецепторов семейства TLR [Гаранина и др., 2020]. Первый сигнал при активации инфламмасомы включает праймирующий сигнал, индуцируемый путем Толл-подобного рецептора (TLR)/ядерного фактора (NF)- $\kappa$ B. Второй сигнал передается различными патоген-ассоциированными молекулярными паттернами (pathogen-associated molecular pattern PAMPs) и молекулярными паттернами, ассоциированными с повреждением (damage-associated molecular pattern-DAMPs), для активации функциональной инфламмасомы путем инициации сборки мультибелкового комплекса. Наиболее изученными сегодня

DAMPs являются белки теплового шока, АТФ, мочевая кислота и прочие [Артемьева, Ганковская, 2020]. TLR играют важную роль в регуляции обучения и памяти и в нейропластичности, изменение которой характерно для депрессивных расстройств. В ЦНС TLR модулируют глиальные и нейрональные функции, в физиологических и/или патофизиологических условиях (в частности, при БДР), включая индукцию нейровоспаления путем чрезмерной активации NLRP [Acioglu et al., 2022] (Рисунок 2).



Примечание:

ROS- активные формы кислорода; PAMPs -молекулярные паттерны, ассоциированные с патогенами; DAMPs- молекулярными паттернами, ассоциированными с повреждением; GSDMD- Гасдермин Д; AMPAR-рецептор альфа-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты; IL (ИЛ) -интерлейкин; NR-ядерные рецепторы; GR-глюкокортикоидный рецептор; ER- рецептор эстрогена; AHR- арильный углеводородный рецептор; PPAR-рецептор, активируемый пролифератором пероксисом; CASP-1 (каспаза-1)- протеаза; АТФ (АТФ)-аденозинтрифосфат.

Рисунок 2 - Активация NLRP в патофизиологии большого депрессивного расстройства (по Wang H., et al., 2021).

TLR на клетках периферической иммунной системы представлены на макрофагах, нейтрофилах, ДК, NK-киллерах, тучных клетках, базофилах, эозинофилах и эпителиальных клетках, а также на Т- и В-клетках [Ogawa et al., 2022]. Большинство DAMP<sub>s</sub> активируют TLR-2 и TLR-4, при этом повышенная экспрессия TLR4 рассматривается как фактор риска тяжести БДР [Артемьева, 2020]. ДК селезенки мышей экспрессируют TLR1, TLR2, TLR4, TLR6, TLR8 и TLR9. TLR2, TLR4 экспрессируется также на CD4 + Т-клетках [Duan et al., 2022]. Поскольку Т-клетки экспрессируют разные TLR, передача сигналов, опосредованная TLR, может напрямую регулировать эффекторные Т-клетки и Treg [Kumar, 2021]. На моноцитах пациентов с БДР наблюдается повышенная экспрессия мРНК всех TLR, кроме TLR3 и -5 [Hung, 2018].

После распознавания DAMP<sub>s</sub> или PAMP<sub>s</sub> через домен LRR цитоплазматические домены TIR TLR рекрутируют сигнальные адаптеры MyD88, TIRAP, TRAM и/или TRIF, затем различные киназы и убиквитинлигазы рекрутируются и активируются, что приводит к активации транскрипционного фактора NF-κB (ядерный фактор κB), p38MAPK и JNK MAPK и образованию провоспалительных цитокинов, включая ФНО-α, ИЛ-1β, ИЛ-6, интерферона- 1 типа и хемокинов [Reale et al., 2018; Yuan et al., 2019; Li, Chang, 2021]. Хронический стресс активирует инфламмасому NLRP1, запускает воспалительную реакцию, приводящую к увеличению продукции CXCL1 и экспрессии его рецептора CXCR2 гиппокампом, при этом наблюдается подавление продукции BDNF, что способствует формированию депрессивно-подобного поведения у мышей [Song, et al., 2020].

Следовательно, активация воспалительных каскадов, вызванная стрессом, может изменить функцию мозга и увеличить вероятность развития БДР и сопутствующих заболеваний [Inserra et al., 2019]; при этом

NLRP-инфламмасома - значимый компонент воспалительного ответа при БДР как в ЦНС, так и на периферии.

#### **2.2.6. Иммунная система и депрессия. Цитокиновая гипотеза депрессии**

Большим количеством работ установлена значимая роль иммунной системы в патогенезе депрессивных расстройств [Сердюк и др., 2011; Беккер, 2016; Ветлугина и др., 2017]. Исследователями отмечается нарушение соотношения некоторых субпопуляций иммунных клеток, а также изменение количества и нарушение функциональной активности иммунных клеток. Клиническая депрессия часто связана с изменением иммунного ответа, снижением количества циркулирующих лимфоцитов, фагоцитоза нейтрофилов, увеличением фагоцитоза мононуклеаров, наряду с многочисленными изменениями маркеров воспаления [Ning et al., 2022]. Сообщается о значительном повышении количества нейтрофилов, снижении соотношения  $CD4^{+}/CD8^{+}$  Т-клеток, моноцитов, а также снижении процента лимфоцитов как у пациентов с БДР, так и на моделях животных с депрессивно- подобным состоянием [Lynall et al., 2020; Kudryavtseva, 2020,2021; Zhou et al., 2022]. У пациентов с БДР было зарегистрировано снижение количества и функциональной активности НК, а также Treg [Grosse et al., 2016; Suzuki et al., 2017], которые могут играть протективную роль при депрессии, увеличение процента циркулирующих клеток Th17 и соотношения Th17/Treg, свидетельствующие о провоспалительном состоянии. При этом количество Treg отрицательно коррелирует с маркерами воспаления [Correia et al., 2021; Alvarez-Mon et al., 2021; Beurel et al., 2022]. Истощение Treg у здоровых людей вызывает быстрый воспалительный ответ [Petrailia et al., 2020].

У пациентов с БДР показано снижение пролиферативной активности и продукции ФНО- $\alpha$  в стимулированных ЛПС мононуклеарных клетках

периферической крови, а также снижение продукции ИЛ-2 и ИЛ-10, наряду с повышением продукции ИЛ-6 в стимулированных ФГА мононуклеарах. Подавление активации периферических моноцитов снижает проявления депрессивно-подобной симптоматики, вызванной хроническим воздействием стресса [Zheng et al., 2016]. У мышей с депрессивно-подобным фенотипом наблюдалось снижение пролиферативной активности ЛПС стимулированных спленоцитов и повышении ими продукции ИЛ-6 [Recasens et al., 2022]. У пациентов с БДР было обнаружено снижение пролиферации и уменьшение количества В-клеток в периферической крови [Lin et al., 2018]. Нарушения иммунной системы при БДР проявляются в виде снижения интенсивности клеточного и гуморального иммунного ответа [Danzer, 2018]. Снижение количества наивных В-клеток, а также регуляторных В-клеток, продуцирующих ИЛ-10, у пациентов с БДР обратно пропорционально степени тяжести заболевания; таким образом, гуморальный ответ вносит вклад в развитие воспаления и течение депрессии [Maes et al., 2020]. В-клетки играют значимую роль в этих процессах посредством секреции провоспалительных цитокинов и хемокинов, презентации антигена и выработки антител, подавлении иммунных реакций путем высвобождения противовоспалительных факторов [Cai et al., 2019]. Показано снижение уровня антител в сыворотке пациентов с БДР [Майорова и др., 2020]. Исследования, проведенные на экспериментальных животных и людях, предполагают связь повышенного уровня глюкокортикоидов и уменьшения количества В-лимфоцитов.

Различные факторы активируют воспалительные клетки и запускают воспалительные сигнальные пути, включая NF-κB и пути митоген-активируемой протеинкиназы (MAPK) [Dong et al., 2018]. NF-κB, активируется фосфорилированием IκB, индуцированным киназой IκB (IKK), что приводит к продукции таких цитокинов, как ФНО-α, ИЛ-1β и ИЛ-6 [Maeng, Hong, 2019]. MAPK активируется цитокинами. Активация

МАРК приводит к фосфорилированию и активации факторов транскрипции [Guerra et al., 2019]. К наиболее часто упоминающимся в литературе молекулярным путям, связанным с БДР, являются фосфорилирование белка STAT через индукцию трансмембранной рецепторной протеинкиназы, TLR/NF- $\kappa$ B, JAK-STAT и PI3K/Akt [Maes et al., 2022].

Путь JAK-STAT тесно связан с пролиферацией и дифференцировкой клеток [Xin et al., 2020]. Это система внутриклеточных белков, используемых многими цитокинами и факторами роста для индукции экспрессии специфических генов. Активация передачи сигналов JAK-STAT является важным путем, лежащим в основе иммунных нарушений при БДР [Maes et al., 2020]. Факторы, высвобождаемые при воспалении, являются активаторами сигнального пути JAK-STAT. Как на уровне мРНК, так и на уровне белка повышенная экспрессия гена JAK3 и p38, а также сниженная экспрессия гена STAT1 наблюдались в группе пациентов с БДР. JAK3 опосредует важные сигнальные события как врожденного, так и адаптивного иммунитета и играет ключевую роль в активации Т-лимфоцитов, в регуляции дифференцировки Т-лимфоцитов и продукции цитокинов, участвует в передаче сигналов путем ассоциации с рецепторами интерлейкинов, такими как ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-7, ИЛ-9, ИЛ-15 и ИЛ-21[Gałęcka et al., 2022].

Воспаление часто вовлечено в патогенез депрессии. Цитокиновая гипотеза депрессии постулирует наличие связи между заболеваниями, связанными с нарушениями работы иммунной системы, и депрессией. Цитокины могут инициировать депрессию через влияние на изменение систем нейротрансмиттеров, снижение уровня серотонина, активацию глутамата, негативного воздействия на нейрогенез путем снижения активности BDNF, усиления активности ГГНО. Многие цитокины также участвуют в регуляции развития, миграции, клеточной пролиферации, секреции гормонов. Изменение продукции периферических цитокинов

влияет на активацию клеток микроглии и изменение уровня интрацеребральных цитокинов. Иммунные нарушения опосредуют ключевые патофизиологические механизмы при БДР [Мазо, Незнанов, 2019]. Устойчивая активация периферических и центральных иммунных клеток и выработка иммунных медиаторов могут вызывать развитие нарушений настроения и когнитивных функций [Dantzer, 2018]. Доказательства влияния провоспалительных периферических цитокинов основаны на анализе клинических данных лечения препаратами ИНФ- $\alpha$  пациентов, с некоторыми соматическими заболеваниями. При этом у психически здоровых пациентов развивалась депрессия с сопутствующими признаками, такими как апатия, ангедония, анорексия и прочие [Jesulola et al., 2018; Benedetti et al., 2022].

По результатам большого количества отдельных исследований и метаанализов был выявлен ряд наиболее значимых в патогенезе БДР цитокинов. БДР сопровождается изменением уровней ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-12, ИЛ-18, ИЛ-8, ИЛ-13, ИЛ-2, интерферон-гамма (ИНФ- $\gamma$ ), ИЛ-4, TGF- $\beta$ 1, ИЛ-10, [Köhler et al., 2017,2018; Kappelmann et al, 2021] и белков острой фазы, таких как С-реактивный белок (СРБ) [Das et al., 2021]. ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$  способствуют развитию местной воспалительной реакции и поддержанию системного низкоградиентного воспаления [Gadat et al., 2018]; кроме того, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8 и ФНО- $\alpha$  обеспечивают нейровоспалительный субстрат и влияют на ГГНО посредством передачи сигналов митоген-активируемой протеинкиназы.

**ИЛ-1 $\beta$** - провоспалительный цитокин, является ключевым цитокином иммунной системы, регулирующим как свой собственный синтез, так и синтез других цитокинов [Dinarello et al., 2018]. Существует два типа рецепторов ИЛ-1 $\beta$ . Наряду с ИЛ1Ra, ИЛ1-зависимая активация клеток регулируется ИЛ1P типа 2, который, в отличие от ИЛ1P1, опосредует преимущественно «супрессорную» активность, так как не запускает внутриклеточную сигнализацию. Следовательно, этот рецептор является

молекулярной «ловушкой», поскольку мембраносвязанная форма ИЛ1Р2 конкурирует с ИЛ1Р1 за связывание с ИЛ1-β, обладая большим сродством, чем у ИЛ1Р1 [Раймуев и др., 2018]. Экспрессия ИЛ1Р2 преимущественно наблюдается на макрофагах М2-фенотипа и Т-reg клетках, контролирующих развитие воспаления. Центральная или периферическая инъекция ИЛ-1β экспериментальным животным вызывает лихорадку, анорексию, нейтрофилию, активацию эндотелиальных клеток, повышение экспрессии на эндотелиальных клетках молекул адгезии, активирует нейтрофилы, повышает синтез белков острой фазы, компонентов комплемента, коллагенов и коллагеназ, активирует остеобласты. Концентрация ИЛ-1β увеличивается с увеличением количества депрессивных эпизодов у пациентов с БДР [Dinarello et al., 2018; Das et al., 2021]. ИЛ-1β индуцирует транскрипцию энзимов, вовлеченных в нейротоксическое звено кинуренинового сигнального пути - индоламин 2,3-диоксигеназы, кинуренин 3-монооксигеназы, кинурениназы. Снижение уровня ИЛ-1β показано после лечения препаратами СИОЗС [Więdołocha, et al., 2018]. Повышенные уровни мРНК ИЛ-1β в крови может служить прогностическим биомаркером к низкоэффективному ответу на лечение антидепрессантами [Aschbacher et al., 2022].

**ФНО-α**- провоспалительный цитокин наравне с ИЛ-1β, является ключевым цитокином иммунной системы; в норме выполняет гомеостатическую функцию и регулирует множество биологических процессов, включая пролиферацию, дифференцировку, апоптоз различных клеток, поляризацию макрофагов и ингибирование онкогенеза [Kalliolias, Ivashkiv, 2016]. Он вырабатывается множеством клеток: активированными макрофагами, В-лимфоцитами, Т-лимфоцитами, NK, полиморфноядерными лейкоцитами, тучными клетками и базофилами, фибробластами, клетками эндотелия сосудов, а также клетками нервной ткани; при этом, указанные клеточные элементы несут на своей

поверхности рецепторы к цитокину. ФНО- $\alpha$  осуществляет свои действия преимущественно через два рецептора: TNFR1(TNFRSF1A, CD120a, p55) и TNFR2 (TNFRSF1B, CD120b, p75). Взаимодействие ФНО- $\alpha$  с TNFR1 активирует фактор транскрипции NF-kB [Xu et al., 2020]. ФНО- $\alpha$  активирует ИДО [Xu et al., 2022]. Повышенная продукция этого цитокина вызывает лихорадку, анорексию, кахексию, индуцирует лейкоцитоз, синтез острофазных белков гепатоцитами, а также активирует гранулоциты, моноциты и макрофаги. Показано, что этот цитокин способствует повышению проницаемости эндотелия, накоплению нейтрофилов и макрофагов в тканях, усилению прокоагулянтных и ослаблению антикоагулянтных свойств эндотелия. ФНО- $\alpha$  запускает сигнальные каскады, ведущие к апоптозу эндотелиальных клеток *in vitro*, это может усиливать прокоагулянтные свойства сосудов и усиление их проницаемости *in vivo* [Воронина и др., 2018]. Уровень периферического и центрального ФНО- $\alpha$  значительно повышен у людей с БДР [Çakici et al., 2020; Choi et al., 2021]. На экспериментальной модели депрессии показано, что нокаут гена ФНО- $\alpha$  снижает выраженность депрессивно-подобной неподвижности в тесте принудительное плавание, что сопровождается увеличением уровней серотонина в коре и гиппокампе [Фурсенко, 2018].

**ИФН- $\gamma$ -провоспалительный цитокин,** продуцируется активированными Т-лимфоцитами и НК клетками, является главным медиатором клеточного иммунного ответа в реакции гиперчувствительности замедленного типа. Продукция ИФН- $\gamma$  Т-лимфоцитами регулируется другими цитокинами: типичным стимулятором - интерлейкином-2 и типичным ингибитором - интерлейкином-10. ИФН- $\gamma$  вызывает активацию макрофагов, индуцируя микробицидность и цитотоксичность, продукцию цитокинов, супероксидных и нитроксидных радикалов, простагландинов. ИФН- $\gamma$  повышает функциональную активность цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL, CD8+), характер влияния на функции Т-хелперов зависит от уровня экспрессии

соответствующих рецепторов [Ешмолов, Ситников и др., 2018; Nobis et al., 2020]. Кроме того, ИФН- $\gamma$  индуцирует ИДО [Mosiołek et al., 2021]. ИФН- $\gamma$  синтезируется как на периферии, так и в клетках нервной ткани, участвуя в патогенезе депрессии: повышение уровня ИФН- $\gamma$  показано у людей с БДР, а также при моделировании депрессивно- подобного состояния [Daria et al., 2020; Buspavanich et al., 2021].

**ИЛ-2** индуцирует контакты с цитотоксическими клетками, является цитокином, необходимым для активации Treg; продукция и эффекты цитокина нарушаются при депрессии. Эффекты ИЛ-2 опосредуются рецептором для ИЛ-2 (ИЛ-2R), присутствующим на клеточных мембранах, активированных Т-клетках. Ряд авторов указывают на повышение уровня растворимого ИЛ-2R (sIL-2R) в крови пациентов с БДР [Çakici et al., 2020], уровень самого цитокина при этом снижен [Buspavanich et al., 2021]. ИЛ-2 способен оказывать умеренный антидепрессивный эффект у человека и грызунов [Karrenbauer et al., 2011].

**ИЛ-6** был идентифицирован как фактор дифференцировки В-клеток, который стимулирует выработку антител. Является модулятором воспалительной реакции и продукции белков острой фазы. Помимо регуляции острого воспаления, ИЛ-6 индуцирует дифференцировку В-клеток, а также активацию и рост популяций Т-клеток [Niraula et al., 2019]. Связывание ИЛ-6 со своим рецептором опосредует его плеiotропные функции. ИЛ-6 участвует в регуляции Th17 / Treg клеток [Wang et al., 2022]. В присутствии TGF- $\beta$  ИЛ-6 является жизненно важным сигналом для дифференцировки наивных Т-клеток в клетки Th17, которые способствуют индукции аутоиммунных заболеваний и приводят к локальному повреждению тканей при хронических воспалительных заболеваниях, включая БДР. Напротив, ИЛ-6 может ингибировать индуцированную TGF- $\beta$  дифференцировку Treg, что, в свою очередь, приводит к подавлению аутоиммунного процесса и защищает от повреждения тканей. ИЛ-6 вместе с другими провоспалительными

цитокинами может активировать кинурениновый шунт, который участвует в глутаматергической нейротрансмиссии [Savitz, 2017]. Он также отвечает за стимуляцию ГГНО в ответ на стресс [Wachowski, Gałeski, 2021]. Уровень периферического и центрального ИЛ-6 значительно повышен при БДР у людей и депрессивно-подобных грызунов [Кудрявцева и др., 2017; Roohi et al., 2021].

**ИЛ-8-** считается провоспалительным цитокином, продуцируемым макрофагами, нейтрофилами, Т-лимфоцитами, НК, эндотелиальными клетками, фибробластами, хондроцитами, кератиноцитами, а также клетками ГМ, такими как астроциты и клетки микроглии [Zhu et al., 2022]. ИЛ-8 синтезируется в ответ на компоненты клеточных стенок бактерий, а также при повышении продукции ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ . В патогенезе БДР снижен уровень центрального и периферического ИЛ-8 [Buspavanich et al., 2021; Green et al., 2021].

**ИЛ-12-** провоспалительный цитокин, является индуктором цитотоксических Т клеток, способен регулировать соотношение гуморального и клеточного иммунного ответа посредством стимуляции дифференцировки Т-хелперов в Th1, что в свою очередь вызвано повышением продукции ИНФ- $\gamma$ . ИЛ-12 стимулирует активность НК. При БДР наблюдается повышение уровня ИЛ-12 [Köhler et al., 2017; Brunoni et al., 2020; Messaoud et al., 2021].

**ИЛ-17-** семейство ИЛ17 включает 6 цитокинов: ИЛ17А, ИЛ17В, ИЛ17С, ИЛ17D, ИЛ17Е (ИЛ25) и ИЛ17F. Наибольшей провоспалительной активностью обладает ИЛ17А (а также ИЛ17F). ИЛ-17А, продуцируется клетками Th17, а также макрофагами, нейтрофилами, дендритными, тучными клетками, ЕК-клетками. Главная функция трех основных цитокинов из семейства ИЛ-17: ИЛ-17А, F и Е - провоспалительная, и заключается в вовлечении в воспаление большого количества различных клеток через индукцию экспрессии ИЛ-6, ИЛ-8, ГМ-КСФ, Г-КСФ, некоторых хемокинов и металлопротеиназ. Опосредованная ИЛ-2

активация STAT5, подавляет дифференцировку Th17 клеток. Было показано, что БДР сопровождается повышенным уровнем ИЛ-17А в периферической крови [Alvarez-Mon et al., 2021] и в ГМ. Введение ИЛ-17А способствует развитию депрессивно-подобного фенотипа [Kim et al., 2021]. В ЦНС ИЛ-17А продуцируется астроцитами, нейронами и микроглией при патологических состояниях [Beurel et al., 2022]. ИЛ-17RA и ИЛ-17RC экспрессируются на астроцитах, микроглии и эндотелиальных клетках. ИЛ-17 инициирует структурное ремоделирование микроглии и стимулирует высвобождение провоспалительных цитокинов из микроглии, что связано с усилением передачи сигналов NF $\kappa$ B/p38MAPK. Повышенная продукция ИЛ-17А нарушает целостность ГЭБ. ИЛ-17 способствует рекрутированию, активации и миграции нейтрофилов, макрофагов, усиливая трафик периферических иммунных клеток в ЦНС. Описанные эффекты ИЛ-17 в ГМ способствуют развитию нейровоспаления и синаптической дисфункции [Kim et al., 2021].

**ИЛ-18** является плеiotропным провоспалительным цитокином, стимулирует продукцию ИНФ- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, молекул адгезии и факторов апоптоза, увеличивает пролиферативную активность Т-лимфоцитов, повышает литическую активность НК клеток. ИЛ-18 участвует в формировании клеточного и гуморального иммунного ответа. ИЛ-18 действует как костимулятор для усиления продукции ИНФ- $\gamma$ , гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ), ИЛ-2 и ИЛ-2R $\alpha$  клетками Th1 и NK [Ihim et al., 2022]. В ряде случаев цитокин может выступать в качестве патогенетического фактора в формировании некоторых заболеваний, сопровождающихся острым и хроническим воспалением, включая БДР. У пациентов с БДР и на моделях депрессии показано повышение уровня ИЛ-18 [Kaufmann et al., 2017; Tian et al., 2021].

**ИЛ-4**-противовоспалительный цитокин, продуцируется лимфоцитами Th2. ИЛ-4 может индуцировать активацию В-лимфоцитов,

ингибировать Th1. Одна из функций ИЛ-4 заключается в контроле пролиферативной активности, дифференцировки и функций В-лимфоцитов (антительного ответа). ИЛ-4 способен активировать Т-лимфоциты и ингибировать NK. Значительное ингибирующее влияние оказывает на моноциты/макрофаги, а также угнетает антитело-зависимую цитотоксичность и антитело-зависимый фагоцитоз. ИЛ-4 увеличивает выработку противовоспалительного sIL-1RA, блокирует спонтанную и индуцированную продукцию таких провоспалительных цитокинов как ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8, ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$  моноцитами, макрофагами и продукцию ИЛ-12 дендритными клетками [Ogłodek et al., 2022] тем самым, предотвращая поляризацию макрофагов в M1 фенотип [Ешмолов, Ситников, 2018; Nobis et al., 2020].

**ИЛ-10**-противовоспалительный цитокин, синтезируется макрофагами M2, ингибирует активацию M1-клеток и Th1 -лимфоцитов [Himmerih et al., 2019; Daria et al., 2020]. Повышение уровня ИЛ-10 препятствует развитию воспалительного процесса посредством подавления активности NF- $\kappa$ B [Roohi, et al., 2021]. ИЛ-10 снижает экспрессию рецептора ИЛ-1 типа I и увеличивает экспрессию рецептора ИЛ-1 типа II [Kim et al., 2021]. На культурах клеток показано, что предварительная обработка клеток *in vitro* ИЛ-10, снижает продукцию ИЛ-6 микроглиальными клетками после стимуляции ЛПС. Ряд данных указывает на то, ИЛ-10 что играет роль в регуляции нейрогенеза, нейропротекции, модуляции процессов памяти, влияя на синаптическую пластичность преимущественно в гиппокампе. Введение ИЛ-10 может ингибировать морфологические изменения, связанные с активацией глии, продукцией провоспалительных цитокинов и активностью ферментов, участвующих в продукции медиаторов воспаления и свободных кислородных радикалов при БДР [Recasens et al., 2019; Zhang et al., 2022]. При БДР уровень ИЛ-10 снижен и отрицательно коррелирует с тяжестью депрессии по шкале Гамильтона, в частности с таким симптомом как

ангедония [Lee et al., 2020; von Tang et al., 2021]. Нарушение синтеза и продукции ИЛ-10 связывают с устойчивостью к лечению антидепрессантами [Syed et al., 2018].

**Интерлейкин ИЛ-13** - противовоспалительный цитокин, влияет на поляризацию макрофагов в М2 фенотип. ИЛ-13 усиливает процесс экспрессии молекул адгезии в эндотелиальных клетках [Ярилин, 2010]. Передача сигналов ИЛ-13 в ГМ, включает пути IL-4R $\alpha$ -JAK2-STAT3 и IL-13R $\alpha$ 1-Tyk2-STAT1/STAT6 для регуляции экспрессии некоторых генов, характерных для воспаления, включая MAO-A [Bhattacharjee et al., 2013]. При БДР наблюдается повышение уровня ИЛ-13 [Köhler et al., 2017; Himmerich et al., 2019].

**TGF- $\beta$ 1** - противовоспалительный цитокин, который опосредует иммуносупрессивные эффекты благодаря своей способности регулировать пролиферацию лимфоцитов и разрешать Т-клеточные воспалительные реакции [Stockis et al., 2017]. Рецепторы для TGF- $\beta$ 1 экспрессируются на эндотелиальных клетках ГЭБ, тем самым TGF- $\beta$ 1 может оказывать значительное положительное влияние на восстановление целостности ГЭБ через передачу сигналов активин-рецептор-подобных киназ -1 и -5. Уровень TGF- $\beta$ 1 в плазме снижен у пациентов с БДР, коррелируют с тяжестью депрессии и ассоциирован с резистентностью к классическим антидепрессантам [Himmerich et al., 2019; Zhao et al., 2020].

Цитокины периферического и центрального происхождения вносят значительный вклад в патогенез депрессивных расстройств. Низкоградиентное системное воспаление представляет собой существенное звено в патогенезе БДР [Ellul et al., 2018]. Периферические цитокины могут преодолевать ГЭБ, проницаемость которого повышена при депрессии, влиять на функцию мозга путем взаимодействия с соответствующими рецепторами на клетках ГМ. Провоспалительные цитокины модулируют настроение и когницию, снижая уровни моноаминов, активируя нейроэндокринный ответ, способствуя



Astrocyte-астроцит; glutamatergic terminal глутаматергическая терминаль; microglia-микроглия; КМО – кинуренин 3-монооксигеназа; НААО – 3-гидроксиантранилат диоксигеназа; KYN – кинуренин; TRP – триптофан; IDO – индоламин 2,3-диоксигеназа; КАТ – кинуренин аминотрансфераза; 3-НАО- 3-гидроксиантранилат оксигеназа; QUIN- хинолиновая кислота; IL– интерлейкин; TNF– фактор некроза опухоли; IFN - интерферон; IL-1β- ИЛ-1β; IL-6- ИЛ-6; TNF-α- ФНО-α; TrkB (tropomyosin related kinase B receptor) - тропомиозиновый тирозинкиназный В рецептор; NF-κB (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) транскрипционный ядерный фактор «каппа-би; endothelial cells- эндотелиальные клетки; monocyte- моноцит; monoaminergic terminal моноаминергетическая терминаль; monoamine synthesis- синтез моноаминов; DA- дофамин; AMPAR– рецептор α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты; NMDAR– рецептор N-метил-D-аспартата; ROS – активные формы кислорода; EAAT- астроцит-специфичный высокоафинный транспортер глутамата; iNOS – индуцибельная форма NO-синтетазы, perivascular macrophage - периваскулярный макрофаг 5-HTT/DAT переносчик серотонина/ дофамина; MAPK – митоген-активируемая киназа; PGE2- простагландин E2; ATP- аденозинотрифосфат; BDNF(brain-derived neurotrophic factor)- нейротрофический фактор мозга; Glu-глутамат; mGluR-метаботропный рецептор глутамата.

Рисунок 3- Возможные механизмы действия воспалительных цитокинов на моноаминовые, глутаматные и нейротрансмиттерные системы головного мозга BDNF (по Felger F., Lotrich E., 2013).

Периферические цитокины также могут влиять на функцию мозга посредством активации блуждающего нерва [Kuhla, 2020; Zorbaz et al., 2022]. Они способны проникать через ГЭБ, попадая в ГМ [Васильева и др., 2020; Takata et al., 2021]. При различных патологических состояниях, связанных с воспалением и нейродегенеративными процессами, проницаемость барьера нарушается [Israelov et al., 2020; Takata et al., 2021]. Такие факторы как повышенная продукция периферических провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-9, ИЛ-17, ИНФ- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$  и хемокинов CCL2, CXCL10, активация инфламмасом могут приводить к снижению экспрессии белков плотного соединения эндотелиальных клеток, таких как клаудин-5, окклюдин и проч., ответственных за избирательную проницаемость ГЭБ или изменению их конформации [Liu et al., 2019; Welcome, 2020]. Известно, что периферическое воспаление приводит к повышению экспрессии молекул клеточной адгезии (VCAM-1), (ICAM-1) и Е-селектина на эндотелиальных клетках. Воспалительные факторы, секретируемые ИКК, такие как АФК и матриксные металлопротеиназы, способствуют собственной миграции указанных клеток в ЦНС и одновременно повышают проницаемость ГЭБ, образуя порочный круг [Zhang et al., 2018; Victoria et al., 2020]. В нормальных физиологических условиях небольшое количество иммунных клеток обнаруживается в ГМ [Song et al., 2016; Korin et al., 2017; Clark et al., 2018]. В физиологических условиях Т-клетки, продуцирующие ИНФ- $\gamma$ , участвуют в регуляции нейронной связи и социальном поведении [Filiano et al., 2016]. Когнитивные задачи увеличивают количество Т-клеток в менингеальном пространстве и ИЛ-4-продуцирующие Т-клетки

регулируют обучение и память, что было показано на мышинной модели с дефицитом ИЛ-4 и трансплантацией костного мозга [Song et al., 2016]. Активированные Т-клетки, проникают в ГМ при нейродегенеративных и воспалительных заболеваниях [Trifu et al., 2020]. Их миграция осуществляется через стенки капилляров в хориоидном сплетении, в субарахноидальном пространстве. После преодоления ГЭБ, инфильтрирующие Т-клетки мигрируют в ткани ГМ, основными воспалительными Т-клетками в ЦНС являются Т-хелперы 17, опосредующие патогенные свойства через продукцию цитокинов ИЛ-17, ФНО- $\alpha$  и ГМ-КСФ и хемокина CCL2(обеспечивает их миграцию). Т-хелперы 17 напрямую взаимодействуют с клетками ЦНС способствуют усилению нейровоспаления [Шевела и др., 2020; Lemaitre et al., 2021] и привлечению дополнительных количеств ИКК в ГМ. В-клетки, которые в физиологических условиях обнаруживаются, в основном, в неонатальном периоде и участвуют в созревании олигодендроцитов, способствуют образованию миелина в период развития мозга, секретируя естественные антитела IgM. В патологических условиях инфильтрация В-клетками наблюдается при некоторых нейродегенеративных заболеваниях, считается, что они участвуют в процессах демиелинизации. НК-клетки продуцируют ИНФ- $\gamma$ , вызывая нарушение проницаемости ГЭБ [Presta et al., 2018]. Нейтрофилы, моноциты, дендритные клетки и тучные клетки также влияют на функцию ГЭБ посредством различных механизмов. Нейтрофилы продуцируют различные провоспалительные цитокины, влияющие на функцию ГЭБ, включая ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-12 и ИФН- $\gamma$ , тогда как ФНО- $\alpha$  может дополнительно индуцировать рекрутирование нейтрофилов в ЦНС [Carmona-Mora et al., 2021]. В процессе миграции нейтрофилов в ЦНС они секретируют ИЛ-1 $\beta$  и локально активируют антигенпрезентирующие клетки (АПК), которые впоследствии активируют эндотелиальную передачу сигналов через IL-1R1, что вызывает рекрутирование Т-клеток и усиливает нейровоспаление

[Song et al., 2016]. Макрофаги и ДК при воспалении обнаруживаются в периваскулярном пространстве между эндотелиальной и паренхиматозной базальными мембранами. Активированные тучные клетки продуцируют гистамин, триптазу, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 и ИЛ-13, которые активируют некоторые матриксные металлопротеиназы, тем самым изменяя ГЭБ проницаемость [Huang et al., 2021; Takata et al., 2021]. Тучные клетки обнаруживаются в ГМ, при депрессивных расстройствах, где они способствуют развитию нейровоспаления [Lenz et al., 2021; Dudek et al., 2021].

Микроглия - это миелоидные иммунные резидентные клетки в ЦНС. Как уже упоминалось ранее (в разделе 2.2.4.), важнейшей функцией клеток микроглии является иммунный надзор в головном и спинном мозге. Нормальное функционирование микроглии является необходимым условием для правильной работы мозга, и активность микроглиальных клеток важна для поддержания нейронных схем и контроля поведения [Синякин, Баталова, 2020]. В физиологических условиях в ГМ микроглия может продуцировать нейротрофические факторы BDNF, GDNF. На поверхности клеток микроглии имеют место рецепторы для нейромедиаторов, нейропептидов и нейромодуляторов, это определяет связь между реакцией микроглии и нейрональной активностью [Алексеева и др., 2019]. Микроглии первыми реагируют на прямое повреждение ЦНС. Находясь в состоянии покоя, они имеют небольшие размеры, тела продолговатой формы, отростки с вторичными и третичными ответвлениями. Этими отростками микроглия активно «исследует» окружение. При обнаружении изменений, происходящих в ГМ, связанных с повреждением или инфекцией, клетки микроглии активируются. Активация микроглии сопровождается изменением ее формы на амебоидную, а также изменением экспрессии ряда генов и функциональной активности. Основной контроль повреждения осуществляется за счет реагирования на уровни внеклеточного АТФ и

секретируемых хемокинов [Коржевский и др., 2019]. Микроглия является главным продуцентом провоспалительных цитокинов и хемокинов, а именно оксид азота (NO), глутамат провоспалительные цитокины ФНО- $\alpha$  ИЛ-8, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-12, противовоспалительные цитокины ИЛ-4 и ИЛ-10, ИЛ-13. Активированная воспалением микроглия способствует повреждению ГЭБ [Wang et al., 2018; Rogovskii, 2020].

Классификация клеток микроглии основана на преобладании синтеза про- или противовоспалительных цитокинов. Подобно тканевым макрофагам, микроглию подразделяют на M0 фенотип - покаяющаяся микроглия, классически активированный провоспалительный M1 фенотип и противовоспалительный M2 фенотип [Wang et al., 2018]. Клетки M1 фенотипа опосредуют нейротоксические и нейродегенеративные эффекты, хронические нейродегенеративные процессы ЦНС сопровождаются преобладанием клеток этого фенотипа. Микроглия M1 вносит вклад в дисфункцию ГЭБ и повышенную проницаемость сосудов в основном за счет продукции провоспалительных медиаторов, стимулирования переноса иммунных клеток и окислительного стресса [Zhang et al., 2020]. Провоспалительная передача сигналов в микроглии M1 включает сигнализацию TLR-4 [Yang et al., 2018], рецептора ИНФ- $\gamma$ , рецептора ГМ-КСФ, и циклооксигеназы-2 (ЦОГ-2) [Atalla et al., 2017]. Кроме цитокинов и хемокинов, в микроглии M1 продуцируют АФК, NO, в том числе при периферическом воспалении, сопровождающем депрессивные расстройства. Кроме того, индукция активации микроглии участвует в отклонении метаболизма триптофана до кинуренина, в стимуляции ГГНО и в устойчивости ГР. Микроглия M2 фенотипа, в основном, продуцирует противовоспалительные медиаторы, такие как ИЛ-10, ИЛ-4, TGF- $\beta$ 1. Секреция ИЛ-10 и рецептора ИЛ-10 способствуют подавлению воспаления и миграции регуляторных Т-клеток, которые облегчают повреждение ГМ.

Следовательно, при воспалении, сопровождающим депрессию, не только цитокины, преодолевая нарушенный при депрессии ГЭБ,

оказывают свои эффекты на ЦНС, но и клетки иммунной системы способны также преодолевая барьер попадая в ГМ, и путем непосредственного контакта с клетками ЦНС активировать резидентные иммунные клетки. Оказывать негативное действие на нейроны, посредством указанных воздействий модулировать функциональную активность ЦНС [Brahman et al., 2015; Clark et al., 2018].

Подводя итог изложенному в настоящей главе, можно заключить, что имеется большое число гипотез, описывающих патогенез депрессии, при этом, они являются не взаимоисключающими, а скорее взаимодополняющими, что отражает системную многофакторную природу депрессивных расстройств [Сафарова, 2020]. Многие из этих гипотез тесно связаны между собой. Каждая из предложенных гипотез способна объяснить лишь часть механизмов патогенеза и эффективность предложенной терапии в рамках одноименной гипотезы, но не охватывает полной картины заболевания. Совершенствование методов диагностики и применение новейших разработок в изучении расстройств депрессивного спектра дают все новые знания для лучшего понимания природы БДР; в частности, сегодня не вызывает сомнений тот факт, что депрессия является патологией, в основе которой лежит нарушение процессов нейроиммунного взаимодействия. Нарушение регуляции нейроиммунных путей лежит в основе депрессивной симптоматики, по крайней мере, у части пациентов с БДР [Корнева и др., 2017], поэтому наиболее актуальной сегодня признается **нейроиммунная гипотеза БДР** [Loonen et al., 2016; Dantzer et al., 2016; Leonard, 2018; Margină et al., 2020], которая, по сути, объединила ключевые аспекты большинства известных гипотез, объясняющих патогенез БДР. Нейроиммунная гипотеза предполагает вовлечение в патогенетические механизмы депрессии ГГНО, модулирующей функциональную активность иммунной системы и ее клеточных элементов, при этом депрессия представляется как хронический воспалительный процесс; дисбаланс нейромедиаторных систем;

торможение механизма восстановления нейронов; повышение эндогенных нейротоксинов; нейродегенеративные изменения, преимущественно наблюдаемые в гиппокампе [Leonard, 2018; Herman et al., 2019; Limanaqi, 2020]. Согласно этой гипотезе, при депрессии патологические изменения в основных гомеостатических системах организма происходят одновременно и взаимосвязаны, что обосновывает возможность терапии заболевания с применением методов, основанных на иммунологических подходах.

### 2.3. Экспериментальные модели депрессии

Экспериментальное моделирование депрессивного состояния - один из основных подходов для изучения патогенетических механизмов депрессии и поиска новых эффективных подходов к терапии заболевания. Экспериментальные модели имеют фундаментальное значение в доклинических исследованиях. Сложность разработки модели депрессии заключается в создании такой модели, которая могла бы быть сопоставимой с симптомами у пациентов с БДР. Необходимо отметить, что экспериментальные поведенческие модели депрессии незаменимы как для уточнения патогенетических механизмов заболевания, так и для разработки новых методов лечения и поиска эффективных антидепрессантов [Гарибова, 2018; Vestring et al., 2021]. Исследователями к настоящему времени, разработаны и используются различные модели депрессии на животных, каждая из которых имеет свои преимущества и недостатки. Для оценки состоятельности экспериментальной модели применяется группа критериев валидности: *face validity*, *construct validity*, *predictive validity* [Willner, 1984]. *Face validity* (внешняя валидность) отражает соответствие симптоматических характеристик модели клинической патологии, в то время как *construct validity* (конструктивная валидность) отражает сходство нейрохимических механизмов

формируемого расстройства у животных и у человека [Григорян, Гуляева, 2015; Demin et al., 2020]. Критерию *predictive validity* (предсказательной валидности) удовлетворяет сходство влияния фармакологического воздействия на симптоматику патологии у человека и животных [Willner, 1984]. Описание наиболее часто используемых в научном мире экспериментальных моделей депрессии, их преимущества и недостатки представлены ниже.

**Фармакологические модели,** основанные на воспалительных реакциях и иммунном ответе [Язуина, и др., 2013, Гарибова и др., 2017; Борозденко и др., 2019]. Среди которых наиболее часто используют такие модели как:

- а) однократная инъекция липополисахарида [Zhang et al., 2021; Qiu et al., 2022].
  - б) используется также непосредственное введение провоспалительных цитокинов, в частности, ИЛ-1 $\beta$  или ФНО-  $\alpha$  [Song et al., 2013].
  - в) введение кортикостерона [Weng et al., 2016; Oliveira et al., 2022].
- Выраженным недостатком этой модели является то, что уровни кортикостерона в плазме крови, наблюдаемые после его экзогенного введения, не соответствуют изменениям уровня кортикостерона, после хронического стресса.

### **Генетические модели депрессии**

Мыши, нокаутные по следующим генам, предложены как модели депрессии: гены, кодирующие компоненты серотонинергической системы (5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT7, SERT); норадренергической системы (D $\beta$ H,  $\alpha$ 2A,  $\alpha$ 2C, NET); MAO (MAO-A, MAO-B); опиатной системы ( $\mu$ -рецептор, дельта опиоид рецептор); ГАМК (ГД, ГАМКВ); глутаматергической системы (NMDA  $\delta$ 4 субъединица, mGluR7); гены рецепторов NPY (нейропептида Y); ген, связанный с нарушением процессов развития нервной системы и внутриклеточных сигнальных путей (DISC1), гены цитокинов и другие гены [Canavello et al., 2009; Язуина и др., 2013;

Kulikova et al., 2016; Борозденко и др., 2019; Gevorgyan et al., 2020]. Использование генетически модифицированных животных позволяет исследовать значение отдельного гена, выявить молекулярные механизмы действия препаратов и идентифицировать молекулы-мишени; при этом, влияние нокаута на поведение, в общем, совпадает с эффектами антагонистов. В формировании депрессивного состояния вовлечено большое число генов, вызывающих различные биохимические нарушения [Valvassori et al., 2013].

### **Модели, основанные на применении стрессоров**

Многие модели депрессии пытаются воспроизвести некоторые основные компоненты депрессивного расстройства под воздействием острого, подострого или хронического стресса, поскольку стресс является основным этиологическим фактором риска возникновения депрессии [Гарибова и др., 2017; Борозденко и др., 2019; Griffith et al., 2020; Kudryavtseva, 2021; Young, Hankin, 2022].

### **Модели стресса раннего периода жизни**

Примером такой модели является раннее разлучения с матерью, что является стрессовым событием, которое может формировать определенный поведенческий и биологический фенотип взрослого потомства [Яузина и др., 2013].

**Модель выученной беспомощности** основана на применении повторного неизбежного стресса при болевом воздействии на хвост/ударами током через пол в камере. У животных развивается устойчивое депрессивно-подобное состояние, характеризующееся двигательной ретардацией и повышенной тревожностью [Гарибова и др., 2017; Борозденко и др., 2019; Vestring et al., 2021].

**В модели хронического непредсказуемого легкого стресса**, стресс создают ежедневными изменениями привычных условий существования (широкий спектр социально-экологических стрессоров, повторяющихся в течение нескольких недель): лишение корма, лишение воды, наклон

клеток, выраженное изменение светового режима, влажная подстилка, изоляция в течение 24-48 ч. [Willner, 2017; Strekalova et al., 2022].

### **Модель хронического социального конфликта**

Среди моделей, основанных на применении стрессоров, данная модель представляется одной из лучших на основании соответствия критериям валидности и основана на надежной теоретической парадигме. В жизненных ситуациях люди часто сталкиваются со стрессовыми стимулами, возникающими в результате взаимодействия с другими людьми; и социальные проблемы являются наиболее распространенным фактором стресса у людей и социальных животных. Влияние психоэмоционального стресса приводит к изменениям иммунной системы, что было показано как у пациентов с БДР, так и на животных моделях [Kudryavtseva, 2020,2021; Борозденко и др., 2019; Жуков, 2020; de Abreu et al., 2020]. В модели хронического социального конфликта регистрируются модулирование схемы вознаграждения; нейродегенеративные и нейровоспалительные изменения в мозге, изменение уровня нейротрофинов, гиперкостеронемия, изменение продукции цитокинов ИКК, а также симптомы ангедонии и социального избегания, характерные для БДР у людей [Idova et al., 2018; Kudryavtseva, 2021; Song et al., 2021; Mao et al., 2022]. В модели показаны также изменения в экспрессии генов, характерные для депрессивно - подобного фенотипа [Planchez et al., 2019; Song, Kim, 2021]. Вариантом модели хронического социального конфликта является модель сенсорного контакта [Кудрявцева и др., 2017; Kudryavtseva, 1998, 2014, 2020, 2021], где в результате агонистических взаимодействий и повторного опыта «побед» либо «поражений», одно животное в конечном итоге приобретает, соответственно, доминирующий статус, а другое - статус побежденного. Через 20 дней животные с опытом поражений демонстрируют стойкое депрессивно-подобное поведение, с выраженной ангедонией [Кудрявцева и др., 2017; Kudryavtseva, 1998, 2014, 2020,2021]. Исследования на самцах депрессивно-подобных мышей

показали, что социальное поражение приводит к нейрохимическим изменениям в мозге, снижению уровней 5-НТ и ДА в структурах ГМ, изменению экспрессии ряда генов (особенно в области гипоталамуса), снижению нейрогенеза [van Bokhoven et al., 2011], изменению активности нейронов в префронтальной коре, миндалевидном теле, гиппокампе и паравентрикулярном ядре [McKim et al., 2017], изменение активности ГГНО, модулирующей функциональную активность ИКК [Wohleb et al., 2016]. Среди таких изменений отмечают сдвиг кроветворения в сторону миелопоэза, повышение уровня провоспалительных цитокинов, снижение интенсивности гуморального и клеточного иммунного ответа, снижение активности процессов центральной дифференцировки Т-лимфоцитов, вместе со снижением количества пре-Т- клеток, которое обусловлено по-видимому, вышеописанным изменением уровня серотонина в ГМ [Кудрявцева и др., 2017; Kudryavtseva, 2020,2021].

Модель хронического социального конфликта представляется оптимальной, поскольку демонстрирует этологическую достоверность и нейроиммунное сходство с депрессивными расстройствами у людей [Lu et al., 2017; Гарибова и др., 2017; Кудрявцева и др., 2017; Борозденко и др., 2019; Жуков, 2020]. Модель чувствительна к действию антидепрессантов, в частности, к лечению селективными ингибиторами обратного захвата серотонина (СИОЗС) [Vialou et al., 2010] и терапии кетамином [Guo et al., 2020].

## **2.4. Подходы к лечению большого депрессивного расстройства**

БДР, являясь распространенным и гетерогенным расстройством, представляет собой актуальную медико- социальную проблему, связанную с высоким процентом больных и отсутствием избирательных корректирующих средств. В терапии депрессии используются различные подходы. К распространенным немедикаментозным воздействиям для

лечения БДР применяют психотерапевтические подходы в рамках различных направлений: межличностная терапия, когнитивно-поведенческая, семейная, коррекции поведения и многие другие [Knight et al., 2019]. Несмотря на доказанную эффективность психотерапевтического лечения, значительное количество пациентов отвечают низкой/отсутствием эффективности к данному виду терапии. Среди прочих немедикаментозных подходов лечения: применение электрошоковой терапии, повторяющейся транскраниальной магнитной стимуляции, глубокой стимуляции ГМ, стимуляции блуждающего нерва [Rosson et al., 2022].

Среди лекарственных препаратов, для лечения БДР применяют СИОЗС, селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и норадреналина и ингибиторы обратного захвата норадреналина-дофамина. В механизмах действия этих классов антидепрессантов ключевую роль играют изменения в моноаминергических системах. Препараты избирательно ингибируют серотониновый транспортер (SERT), транспортер норадреналина (Norepinephrine Transporter – NET) и/или транспортер дофамина (Dopamine Transporter – DAT) и тем самым увеличивают внутрисинаптические концентрации соответствующих моноаминов [Jakobsen, Gluud, 2020].

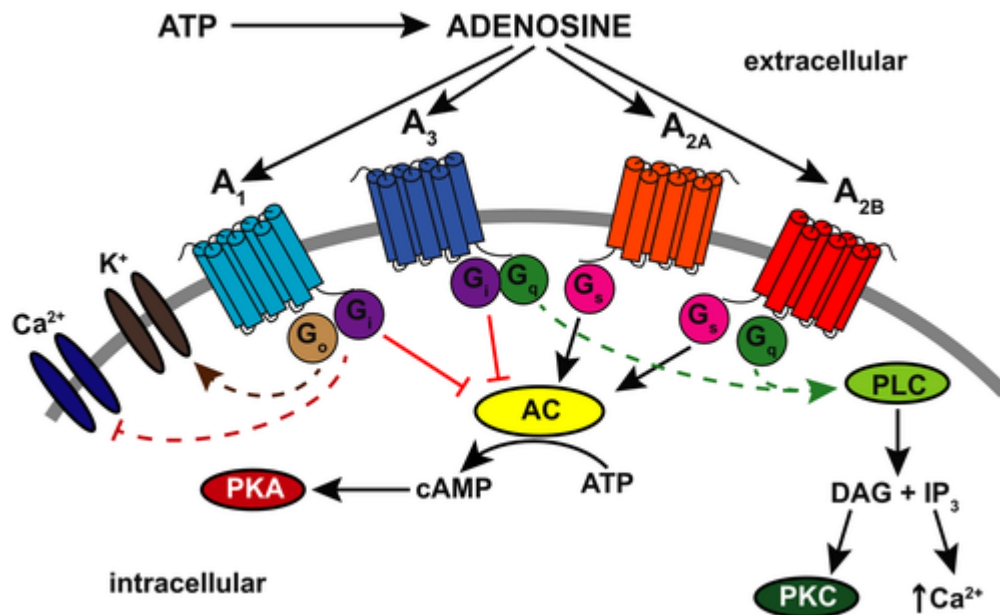
Среди других типов антидепрессантов, применяемых для лечения депрессии, выделяют атипичные антидепрессанты, ингибиторы моноаминоксидазы (ИМАО) антидепрессанты, воздействующие на систему мелатонина [Vos et al., 2021], трициклические антидепрессанты (ТЦА). Учитывая существенную роль воспаления в патогенезе депрессии, широко используются противовоспалительные препараты. Положительные эффекты на течение БДР были отмечены при применении трех классов противовоспалительных препаратов: нестероидных противовоспалительных препаратов [Sakamoto et al., 2021], кортикостероидов и ингибиторов цитокинов [Bavaresco et al., 2020].

Среди перспективных фармакологических препаратов, для лечения расстройств настроения используют кетаминоподобные препараты, которые были предложены как быстродействующие вещества, а также ряд других психоактивных препаратов, но существует ряд вопросов, связанных с их потенциальной токсичностью и привыканием к ним [Ritter, Findeis, 2020; Yavi et al., 2022]. В частности, к данному классу препаратов относится кофеин, использование которого обусловлено не только его давно и хорошо известными психонейромодулирующими свойствами [Zhao et al., 2019; Zwilling, 2020; Janitschke et al., 2021], но и влиянием на функциональную активность иммунной системы и ее клеточных элементов. Иммуномодулирующие свойства кофеина, обуславливающие его влияние на патогенетические механизмы депрессии, в последнее десятилетие активно исследуются. Основные иммуномодулирующие свойства кофеина будут представлены в следующем разделе.

#### **2.4.1. Иммуномодулирующие свойства кофеина**

Основными молекулярными мишенями кофеина являются аденозиновые рецепторы (АР) A1AR и A2AR [Al Reef et al., 2018]. Кофеин также является антагонистом подтипа аденозиновых рецепторов A2B. К рецептору A3AR кофеин не обладает высоким сродством [Al Riff et al., 2018; Gomes, 2021]. АР могут регулировать активность аденилатциклазы (АЦ), тем самым изменяя соотношение АТФ/АМФ. АР классифицируют на основе их дифференциального связывания с аденилатциклазой (АЦ) для регуляции уровней цАМФ. A1AR и A3AR связаны с белками G i/o, A2AR и A2BR связаны с белками G s/olf. Активация аденозином A1AR и A3AR подавляет АЦ с последующим снижением уровня цАМФ. Активация аденозином A2A и A2BR стимулирует АЦ, что увеличивает клеточный уровень цАМФ и активирует протеинкиназуА (ПКА), которая затем

фосфорилирует и способствует активации цАМФ-чувствительного элемент-связывающего белка (CREB) [Açikalın, Sanlier, 2021] (Рисунок 4).



Примечание:

АС- аденилатциклаза (АЦ); АТФ- аденозинтрифосфат (АТФ); цАМФ- циклический аденозинмонофосфат; ДАГ-диацилглицерин; G- G белок; IP<sub>3</sub>- инозитолтрифосфат; PKA- протеинкиназа А(ПКА); PKC-протеинкиназа С; (PLC) фосфолипаза С (по van Calker et al., 2019).

Рисунок 4 - Четыре подтипа аденозиновых рецепторов и их внутриклеточная передача сигналов.

Низкие концентрации аденозина, продуцируемые во время инициации воспаления, активируют A1AR, высокие- A2AR. Внеклеточный АТФ преимущественно действует как провоспалительная молекула [Wang, Chen, 2018; Maharana, Panda, 2018]. Известно, что аденозин стимулирует миграцию нейтрофилов через A1AR и A3AR, увеличивая количество адгезивных молекул на эндотелии [Zhong et al., 2022].

В ЦНС кофеин действует как антагонист аденозиновых рецепторов, влияя на нейротрансмиттеры. АР регулируют высвобождение нейротрансмиттера глутамата. Блокада АР (в основном подтипы A1 и A2A), кофеином сопровождается повышением высвобождения ДА, НА,

ацетилхолина и ГАМК [Vázquez et al., 2022]. Пресинаптические рецепторы A1AR, ингибирующие высвобождение нейротрансмиттеров, представлены на поверхности большинства типов нейронов, эффект кофеина на высвобождение ГАМК опосредован блокированием A1AR [Vázquez et al., 2022]. Психостимулирующее действие кофеина обусловлено его влиянием на гетеромеры аденозиновых и дофаминовых рецепторов, усиливая дофаминергическую нейротрансмиссию [Vázquez et al., 2022; Pohanka, 2022], а также снижением уровня внутриклеточного кальция, что предотвращает деполяризацию глутаматергических нейронов и высвобождение глутамата при блокаде A2AR [Villanueva-García et al., 2020]. Кофеин проявляет дозозависимый эффект, что подтверждается многими исследованиями. Например, в серии исследований на трансгенных крысах, однократное внутрибрюшинное введение низких доз кофеина (5 мг кг<sup>-1</sup>), увеличивало плазменные уровни Г-КСФ, ИЛ-10 [Sallaberry et al., 2018; Lopes et al., 2019]. Обратный эффект наблюдался в случаях приема высоких доз кофеина (18 мг/кг/сут и выше) [Cappelletti et al., 2021]. При высокой концентрации кофеин связывается с A2AR. Блокада A1AR при действии кофеина в низких концентрациях увеличивает накопление цАМФ, повышение уровня которого может предотвратить активацию NF-κB через пути цАМФ/РКА, тем самым снижая продукцию провоспалительных цитокинов [Aslam, Ladilov, 2022]. В доклинических исследованиях на крысах при потреблении ими кофейного экстракта сообщалось о снижении уровня мРНК ключевых генов, связанных с воспалением: STAT1, ФНО, ИНФ-γ и PPAR [Chowdhury, Barooah, 2020]. Аналогичные результаты были получены в клинических исследованиях, когда ФНО-α и PPARγ подавлялись даже при самой низкой испытанной дозе кофеина, также снижались уровни продукции ИЛ-1β, ИЛ-8, МIP-1β, ИЛ-6, ИНФ-γ, ГМ-КСФ, ФНО- α, MCP-1 [Iris et al., 2018; Ilmiawati et al., 2020]. Кофеин может изменять внутриклеточные уровни цАМФ (известен как медиатор противовоспалительных реакций) несколькими способами,

включая антагонизм к АР, стимуляцию катехоламинов, ингибирование фосфодиэстеразы, фосфоинозитид-3-киназы и родственных ей киназ [Murray et al., 2021]. Применение кофеина оказывает иммуномодулирующее действие на В-лимфоциты в селезенке мышей; снижает хемотаксис нейтрофилов и моноцитов [Al Reef et al., 2018]. В исследованиях на крысах, при введении дозы кофеина 37,5 мг/кг в сутки было показано значительное снижение уровней ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6, малонового диальдегида в плазме крови [Dorvigny et al., 2021]. В значительной степени реализация кофеином про- или противовоспалительного действия зависит от конкретного типа клеток и экспрессии соответствующих рецепторов. Исходя из конформационного сходства молекул аденозина и кофеина, а также реализации эффектов последнего через рецепторы аденозина, представляет интерес рассмотреть экспрессию АР на иммунных клетках различных типов. На макрофагах экспрессируются все типы АР [Pasquini et al., 2021]. В исследовании *in vitro*, проведенном на стимулированных макрофагах мышей, инкубированных в дальнейшем с 0,1–1,2 мМ экстракта кофеина в течение 24 ч, было выявлено снижение в культуральном супернатанте уровней ИЛ-6, ИЛ-3, ИЛ-13, ФНО- $\alpha$  [Kalymbetova et al., 2018]. *in vitro* обработка индуцированных ЛПС макрофагов человека экстрактом кофе снижает их MCP-1 хемотаксическую миграцию, выработку ИЛ-1 $\beta$ , СРБ, ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 через ингибирование как фосфорилирования NF- $\kappa$ B p65, так и инактивацию JAK2/STAT3. Также показана стимуляция продукции Г-КСФ, ИЛ-2 [Narayanaperumal et al., 2022]. Кроме того, одним из типов рецепторов на макрофагах являются TLR, кофеин может ингибировать TLR-опосредованные воспалительные каскады в макрофагах, подавляя мобилизацию кальция. В низких концентрациях (< 5 нМ) кофеин предотвращает апоптоз макрофагов, тогда как в умеренных концентрациях (5–20 нМ) кофеин индуцирует апоптоз в макрофагах. В условиях *in vitro* было показано, что добавление кофеина в концентрации 50 мкМ к культуре ЛПС-активированных моноцитах

пуговинной крови человека ослабляет секрецию ФНО- $\alpha$ , блокируя A1AR [Chavez-Valdez et al., 2016]. Обработка экстрактом кофе (в концентрации 10 мкг/мл) мононуклеарных клеток периферической крови человека, стимулированных дрожжами, также приводила к снижению уровней ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и ИНФ- $\gamma$  и повышению уровня ИЛ-10 в культуральных супернатантах [Alves et al., 2019]. Кроме того, считается, что кофеин снижает катаболизм триптофана в мононуклеарных клетках периферической крови человека [Gostner et al., 2015]. Стимулирующий пролиферативный эффект кофеина на мононуклеары периферической крови человека проявлялся только в уже активированных клетках, что свидетельствует о независимом от AR механизме [Schiedel et al., 2013]. В низких концентрациях (<5 нМ) кофеин предотвращает апоптоз макрофагов, тогда как в умеренных концентрациях (5–20 нМ) – индуцирует [Dong et al., 2018].

На NK-клетках идентифицированы A1R, A2AR и A2BR. Поэтому они также могут модулироваться кофеином AP-зависимым образом. Стимулируя норадреналин, кофеин может способствовать мобилизации естественных клеток-киллеров.

Все четыре подтипа AR присутствуют на дендритных клетках и лимфоцитах человека, однако на разных уровнях экспрессии, что приводит к разным профилям рецепторов [Pasquini et al., 2021]. В исследовании *in vivo* на крысах показано, что кофеин подавляет экспрессию цитокинов ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6 в мезентериальных лимфоцитах. Аденозин на низком уровне может активировать A1AR [Przybyła et al., 2018; Liu et al., 2019].

Следовательно, широкое представительство на ИКК рецепторов к аденозину обеспечивает рецептор-опосредованную модуляцию кофеином функциональной активности на клетках иммунной системы различных типов, обуславливает выраженные дозозависимые иммуномодулирующие свойства данного психоактивного препарата, которые были описаны выше.

Обобщая представленные в настоящем литературном обзоре данные, можно заключить, что БДР - это гетерогенное заболевание, характеризующееся многофакторной этиологией. В патогенез БДР вовлечены различные механизмы, в большинстве своем объясняемые нейроиммунной гипотезой формирования депрессивных расстройств; при этом, все больше данных указывает на существенную роль нарушений функциональной активности иммунной системы и ее клеточных элементов в патогенезе БДР. Выраженное фенотипическое и функциональное сходство клеточных элементов иммунной и нервной систем, равно как и однонаправленное влияние большинства психоактивных препаратов, включая кофеин, на ЦНС и иммунную систему позволяет рассматривать ИКК в качестве модельных объектов для воздействия на межсистемную функциональную взаимосвязь и предполагает возможность разработки подходов к терапии депрессии, основанных на клеточных технологиях. Клеточные технологии являются критическими технологиями, применение ИКК и их продуктов являются многообещающими объектами доклинических исследований и обладают потенциалом в лечении психических состояний, связанных со структурно-функциональными нарушениями ГМ, ярким примером которого и является депрессия. Исследование эффектов и механизмов влияния ИКК, в том числе и модулированных *ex vivo* психоактивным препаратом на функции ЦНС и иммунной системы на различных экспериментальных моделях является актуальным в связи с возможностью применения в дальнейшем результатов этих исследований в разработке новых подходов к иммунотерапии депрессивных расстройств у человека с использованием клеточных технологий.

### **Глава 3. Материалы и методы исследования**

#### **Экспериментальные животные**

Исследование выполнено на мышах-самцах (CBAxС57BL/6) F1 в количестве 646 особей в возрасте 3-4 - х месяцев. Животные были получены из лаборатории экспериментальных животных (моделей) НИИФКИ (г. Новосибирск) и из питомника НИЛЭМ (г. Томск). Животные содержались в условиях лабораторного вивария в клетках по 5-10 особей, в течение не менее двух недель до начала эксперимента на стандартной диете, при свободном доступе к воде и естественном световом режиме. Исследования с животными проводились в соответствии с законодательством Российской Федерации, положениями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях, требованиями и рекомендациями Руководства по содержанию и использованию лабораторных животных и были одобрены на заседании локально-этического комитета НИИФКИ (протокол заседания № 139 от 30.05.2022 г.).

#### **Вещество**

Кофеин-бензоат натрия (раствор для инъекций) 100 мг/мл амп. 1 мл №10  
Производитель: ОЗ ГНЦЛС (Украина, Харьков), активное вещество: 1 мл содержит кофеин - бензоата натрия 100 мг. Вспомогательные вещества: гидроксид натрия, вода для инъекций. Лекарственная форма - инъекционный раствор. Приготовление раствора для обработки клеток осуществлялось путем последовательного разведения физиологическим раствором до концентрации 100 мкг/1 мл. В дальнейшем, в тексте будет употребляться название вещества «кофеин», подразумевая кофеин-бензоат натрия.

## **Экспериментальные воздействия**

**Иммунизация взвесью эритроцитов барана.** Эритроциты барана отмывали три раза пятью объемами среды 199. Затем готовили 5% взвесь на среде 199 и вводили внутривентриально в объеме 0,5 мл.

### **Моделирование депрессивно-подобного состояния**

Учитывая наличие в популяции самцов (CBA×C57Bl/6)F1 особей с активным и пассивным типами поведения, представители которых характеризуются определенными структурно-функциональными характеристиками нервной и иммунной систем и различной психофизиологической реакцией на стрессовые воздействия [Markova, 2000; Viveros, 2001; Маркова, 2012-2021; Немец, Виноградова, 2017; Bondar et al., 2018; Ambrée et al., 2018], с целью формирования однородных экспериментальных групп животных, все мыши были предварительно протестированы в «открытом поле». Депрессивно-подобное состояние формировалось у особей с пассивным типом поведения, наименее устойчивых к стрессовым воздействиям [Немец, 2017], в результате 20-кратного опыта поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях (модель хронического социального стресса) [Kudryavtseva 1998, 2014; Duman, 2010; Ambrée et al., 2018]. Для этого равных по массе тела самцов с активным и пассивным типами поведения попарно помещали в экспериментальные клетки, разделенные пополам прозрачной перегородкой с отверстиями, позволявшей мышам видеть, слышать, воспринимать запахи друг друга (сенсорный контакт), но предотвращавшей физическое взаимодействие. Тестирование поведения начинали через 2-е суток - после адаптации мышей к новым условиям содержания и сенсорного знакомства друг с другом. Ежедневно во второй половине дня (15.00–17.00 часов) после замены крышки клетки на прозрачное стекло, необходимое для наблюдения за животными, и 5-минутной активации и адаптации особей к новому освещению,

перегородку убрали, что приводило к агонистическому взаимодействию самцов. Взаимодействие самцов прекращали, вновь устанавливая между ними перегородку, если интенсивные атаки со стороны нападающей особи во время агрессивных столкновений длились более 3-х минут. Уже в первой конфронтации выявлялись победители и побежденные (побежденных животных помечали, подстригая ухо). Агрессоры (победители) в тестах демонстрировали выраженную агрессию, нападая и атакуя партнера, побежденные животные (жертвы) демонстрировали подчиненное поведение или убегали от агрессора. В дальнейшем после тестирования производили замену партнёра в клетке: самца, потерпевшего поражение, пересаживали в незнакомую клетку на чужую подстилку к другому агрессивному соседу за перегородкой. В результате, после 20-ти дней агонистических взаимодействий у самцов с многократным опытом поражений, развивается депрессивно-поподобное состояние [Kudryavtseva, 2006, 2017, 2020]; после чего животные были индивидуально рассажены в клетки для исключения агонистического взаимодействия. Формирование депрессивно-подобного поведения было подтверждено поведенческим фенотипированием (тест «Принудительное плавание», тест «Открытое поле»; ангедонию оценивали по предпочтения раствора сахарозы, с помощью автоматизированной мультифункциональной системы поведенческого фенотипирования лабораторных животных IntelliCage (TSE systems, Germany); в качестве контроля при этом были использованы самцы с пассивным типом поведения, не имевшие опыта агонистических взаимодействий и помещенные на 5 дней в условия индивидуального содержания для удобства тестирования. Животные, содержащиеся в указанных условиях, являются наиболее адекватным контролем для данной модели [Avgustinovich et al., 2018], поскольку при этом снимается эффект групповых взаимодействий и не развиваются эффекты социальной изоляции. Депрессивно-подобные самцы (CBA×C57Bl/6)F1

использовались в последующих экспериментах в качестве доноров и реципиентов иммунокомпетентных клеток.

### **Иммунологические методы**

#### **Получение суспензии спленоцитов**

Депрессивно- подобных -самцов (CBA×C57BL/6)F1 забивали путем цервикальной дислокации; в стерильных условиях вскрывали брюшную полость, извлекали селезенку, очищали от соединительной ткани и помещали во флаконы с охлажденной до 40 С средой RPMI-1640 (5 мл на селезенку). Выделенные селезенки измельчали на мельчайшие кусочки при помощи ножниц. Образовавшуюся в результате измельчения суспензию клеток осторожно ресуспензировали с помощью шприца для того, чтобы распались оставшиеся скопления клеток, центрифугировали 8 мин при 150g. После удаления надосадочной жидкости, находящиеся в осадке спленоциты ресуспензировали в среде RPMI-1640. Определение жизнеспособности клеток проводили с помощью трипанового синего. 50 мкл суспензии исследуемых клеток в среде RPMI–1640 смешивали с равным объемом 0,4% раствора трипанового синего («ПанЭко», РФ) и переносили в камеру Горяева. Подсчитывали 100 жизнеспособных (неокрашенных) и «мертвых» (окрашенных) клеток и определяли процент жизнеспособности [Шахов и др., 2004].

#### **Подготовка и трансплантация иммунокомпетентных клеток**

Иммунокомпетентные клетки для трансплантации выделяли из суспензии клеток селезенки депрессивно- подобных мышей – доноров (CBA x C57 BL/6)F1, обрабатывали *in vitro* кофеином из расчета  $15 \times 10^6$  клеток/100 мкг/кофеина в присутствии 3% FCS (Hyclone) в течение 25 минут с последующим 3-кратным отмыванием клеток от кофеина. Трансплантация прекультивированных с кофеином спленоцитов сингенным депрессивно-подобным реципиентам производилась в ретроорбитальный синус в концентрации  $15 \times 10^6$  клеток в объеме 0,3 мл физиологического раствора на одно животное. В контрольной группе

животных подготовка и трансплантация спленоцитов проводилась в аналогичных условиях эксперимента, за исключением того, что клетки культивировались без присутствия кофеина.

### **Определение количества антителообразующих клеток в селезенке**

Способность мышей к иммунному ответу на эритроциты барана (ЭБ) оценивали на 5-е сутки после внутрибрюшинной иммунизации ЭБ по количеству локальных зон гемолиза в полужидкой среде модифицированным методом A.J. Cunningham [Cunningham, 1965]. Селезенку измельчали ножницами в бюксе со средой RPMI - 1640, взвесь кусочков ткани несколько раз пропускали с помощью шприца через стальную иглу. Полученную суспензию клеток фильтровали. Конечный объем суспензии доводили до 5 мл. Работы проводили при температуре + 4°C. Равные объемы клеточной суспензии, 10% суспензии ЭБ и раствора комплемента смешивали в бюксе и заливали в стеклянные камеры. Камеры были изготовлены следующим образом: между двумя предметными стеклами прокладывали полоску бумаги, а верхние и нижние края склеивали между собой горячим парафином. Когда парафин остывал, полоску бумаги вынимали и в щель между стеклами шприцем заливали смесь из 0,5 мл клеточной суспензии, 0,5 мл ЭБ (10% суспензии) и 0,5 мл комплемента. Комплемент готовили непосредственно перед заливкой камеры. Учитывали объем суспензии, залитой в камеры. Заполненные камеры инкубировали в течение 45 минут в термостате при температуре 37°C. После инкубации подсчитывали количество локальных зон гемолиза в камере под бинокулярной лупой (увеличение в 20 раз). Зона гемолиза (бляшка) представляет собой округлый участок, почти полностью свободный от эритроцитов. Учитывая число бляшек в камере, количество ядродержащих клеток в 1 мл клеточной суспензии, объем заполненной камеры и клеточность селезенки, подсчитывали абсолютное число АОК во всей селезенке и относительное их число на ядродержащих клеток

селезенки. Подсчет ядросодержащих клеток селезенки производили в камере Горяева.

#### **Определение высоты реакции гиперчувствительности замедленного типа**

Мышей иммунизировали внутрибрюшинным введением эритроцитов барана (0,5% - 0,5 мл). Разрешающую дозу указанного антигена (50% - 0,05 мл) вводили под апоневроз задней стопы через 96 часов. Формирование реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) оценивали через 24 часа после разрешающей инъекции по степени опухания лапы (изменения её толщины по сравнению с позитивно-контрольной задней лапой того же животного, в которую была введена среда RPMI - 1640). Индекс реакции (ИР) определяли для каждой мыши по формуле  $ИР = (P_o - P_k) / P_k$  и выражали в процентах [Yoshikai, 1979].

#### **Определение уровня пролиферативной активности клеток**

Пролиферативный ответ спленоцитов оценивали стандартным методом по включению в нуклеопротеидные фракции клеток радиоактивной метки (H3 - тимидин). Суспензию клеток в полной культуральной среде, содержащей RPMI1640, 5% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ L-глутамина, 10 мМ HEPES-буфера,  $5 \times 10^{-5}$  М 2-меркаптоэтанол (Sigma, USA) и 80 мкг/мл гентамицина вносили в объеме 50 мкл в 96-луночные круглодонные планшеты (Linbro, USA) в концентрации  $10 \times 5$  спленоцитов на лунку. К суспензии добавляли по 50 мкл митогена (субоптимальные концентрации липополисахарида (ЛПС) *E.coli* 0111:B4 (Sigma, USA) и конкавалина А (КонА) (Pharmacia Fine Chemicals, Sweden) определялись в серии предварительных экспериментов и составляли соответственно 5 мкг/мл и 3 мкг/мл) и/или культуральной среды до полного объема 150 мкл на лунку. Клетки культивировались в течение 48 часов при 37°C и 5% содержании CO<sub>2</sub> в атмосфере. За 18 часов до окончания периода культивирования вносили H3 - тимидин (1 мкКи на лунку). По окончании

периода инкубации клетки собирали на специальные стекловолокнистые фильтры (Flow Lab. Inc.) с помощью автоматического 12-канального Cell harvester-530 (Flow Lab. Inc.). Оценку радиоактивности материала производили в жидкостном сцинтилляционном счетчике SL-30 (Intertechnic, Франция). Результаты представлены в виде среднего счета в имп/мин.

### **Определение уровня цитокинов**

Количественное содержание цитокинов определяли в образцах культуральных супернатантов спленоцитов и отдельных структур головного мозга депрессивно-подобных реципиентов. Для определения содержания цитокинов в супернатантах спленоциты культивировали в концентрации  $2 \times 10^6$  /мл в объеме 2 мл в 24-луночных планшетах для иммунологических исследований (Libro, USA) в полной культуральной среде, содержащей RPMI-1640, 10% инаktivированной эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ L-глутамин, 10 мМ HEPES-буфера и 80 мкг/мл гентамицина в течение 24 часов для исследования продукции ИЛ-1 $\beta$  и ФНО- $\alpha$ ; 48 часов для ИЛ-10 и ИЛ-6 и 72 часов для оценки продукции спленоцитами ИФН- $\gamma$ . Для исследования митоген-стимулированной продукции цитокинов клетками селезенки в культуральную среду добавляли ЛПС *E. coli* 011: B4 (Sigma) для ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6, и КонА (Sigma) – для ИФН- $\gamma$  и ИЛ-10 в концентрациях, стимулирующих субоптимальную продукцию каждого из цитокинов, определенную в серии предварительных экспериментов. По окончании культивирования клеточную суспензию собирали, клетки осаждали центрифугированием, а культуральный супернатант использовали для исследования.

Лизаты структур головного мозга (префронтальная кора, гипоталамус, гиппокамп, стриатум) животных получали путем гомогенизирования тканей в среде RPMI-1640 с добавлением 0,1% Triton X-100 (GERBU Biotechnik GmbH), с последующим центрифугированием в течение 3 минут при 10000 оборотов/мин. Надосадочную жидкость

использовали для исследования. Содержание цитокинов в исследуемых образцах оценивали методом ИФА (ELISA) с использованием специфических тест – систем “eBioscience” (BenderMed Systems, Austria) для определения ИФН- $\gamma$ , ИЛ-6 и «R&D Systems Inc.» (USA) для определения ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-10, ФНО- $\alpha$  в соответствии с инструкцией фирм-производителей. Оптическую плотность исследуемых образцов измеряли при помощи спектрофотометра с вертикальным прохождением света Anthos 2020 («AnthosLabtec», Austria) при длине волны 450 нм.

### **Определение уровня триптофана в клетках селезенки**

Триптофан обладает наиболее сильной флуоресценцией среди всех 20 протеиногенных аминокислот. Триптофан поглощает электромагнитное излучение с длиной волны 280 нм (максимум) и сольватохромно излучает в диапазоне 300-350 нм. Указанные свойства триптофана позволяют использовать метод лазерно-индуцированной флуоресценции для определения уровня его содержания в биологических образцах [Tedetti, et al., 1965; Бурштейн, 1973]. Уровень триптофана определялся указанным методом в ткани селезенки и суспензии спленоцитов всех депрессивно-подобных мышей-реципиентов (СВА х С57Bl/6)F1. Исследования были проведены на базе Института теоретической и прикладной механики им. С. А. Христиановича СО РАН.

Для облучения образцов использовали импульсно-периодический лазер "OpotekVibrant HE 355 II +UV" с оптопараметрическим преобразователем, позволяющим получать перестраиваемое лазерное излучение длительностью  $\sim 4$  нс в диапазоне 210-355 нм с энергией в импульсе до 1.5 мДж и в диапазоне 410-700 нм с энергией в импульсе до 15 мДж. Пятно использовали приблизительно 5х14 мм. За время выдержки спектрометра 1 с. происходило накопление импульсов излучения. Для регистрации флуоресценции – спектрометр на основе спектрографа с дифракционной решеткой "Princeton Instruments Action SP2300" и охлаждаемой ПЗС матрицей с открытыми электродами "Princeton

Instruments Pixis 256". Энергия импульса не превышала 200 мкДж/импульс. Контролировалась линейность флуоресценции. Измерения проводили с использованием длины волн лазерного излучения 250 нм, со специальным фильтром перед входной щелью монохроматора с коротковолновой границей 300 нм. Каждый спектр нормировали на полную энергию лазерного облучения за время выдержки или на максимум, для сравнения спектров. Предварительно было произведено сравнение нормированных на максимум спектров флуоресценции образцов суспензии спленоцитов вышеуказанных групп депрессив-ноподобных реципиентов при возбуждении лазерным излучением 250 нм. Для того чтобы определить уровень триптофана в клетках, была подобрана кратность разведения исходной клеточной суспензии физиологическим раствором, чтобы интенсивность основного пика была пропорциональна кратности разведения (при небольшой кратности разведения пропорциональности не наблюдается так как глубина проникновения лазерного излучения меньше глубины кюветы). При таком условии интенсивность основного пика пропорциональна количественному содержанию триптофана в исследуемом образце. Суспензию клеток в одинаковых концентрациях (разведение в 300 раз) и одинаковых объёмах (2 мл) помещали в кювету из нержавеющей стали диаметром 2 см. При этих условиях интенсивность основного пика флуоресценции пропорциональна количеству триптофана в клетках. Производился анализ максимальных интенсивностей флуоресценции исследуемых образцов суспензии спленоцитов.

### **Определение количественного содержания нейротрофического фактора в головном мозге**

Количественное содержание нейротрофического фактора BDNF в головном мозге мышей-реципиентов определяли в образцах супернатантов лизатов его структур, для которых показана наиболее выраженная экспрессия указанного фактора (гиппокамп, префронтальная кора)

методом ИФА с использованием специфической тест – системы «R&D Systems Inc.» (USA) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя.

### **Гистологическое исследование гиппокампа**

Депрессивно-подобных реципиентов через 48 часов после трансплантации прекультивированных с кофеином спленоцитов усыпляли в камере с CO<sub>2</sub>; транскардиально перфузировали фосфатно-солевым буфером (PBS), а затем 4% параформальдегидом в PBS. Головной мозг быстро извлекали, обезвоживали с 40% раствором сахарозы в 1 х PBS с 4 % параформальдегидом, замораживали в среде О.С.Т и хранили при температуре -70° С. Криосрезы гиппокампа толщиной 30 мкм были получены при помощи криотома HistoSafeMicroCut – SADV (Китай). Окрашивание по Ниссля проводили по стандартной процедуре (Raxinos and Franklin, 2019). Изображение было получено и проанализировано с помощью микроскопа Nikon Eclipse Ci (Nikon, Япония), соединенного с камерой Nikon DS-Fi2 (Nikon, Япония) и программным обеспечением Image Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, CA, США). Плотность нейронов измеряли полуколичественным методом (Tikhonova et al., 2017).

Депрессивно-подобных реципиентов через 48 часов после трансплантации прекультивированных с кофеином спленоцитов усыпляли в камере с CO<sub>2</sub>; транскардиально перфузировали фосфатно-солевым буфером (PBS), а затем 4% параформальдегидом в PBS. Головной мозг быстро извлекали, обезвоживали с 40% раствором сахарозы в 1 х PBS с 4 % параформальдегидом, замораживали в среде О.С.Т и хранили при температуре -70° С. Криосрезы гиппокампа толщиной 30 мкм были получены при помощи криотома HistoSafeMicroCut – SADV (Китай). Окрашивание по Ниссля проводили по стандартной процедуре (Raxinos and Franklin, 2019). Изображение было получено и проанализировано с помощью микроскопа Nikon Eclipse Ci (Nikon, Япония), соединенного с камерой Nikon DS-Fi2 (Nikon, Япония) и программным обеспечением

Image Pro Plus 6.0 (Media Cybernetics, CA, США). Плотность нейронов измеряли полуколичественным методом (Tikhonova et al., 2017).

### **Тесты для оценки поведения**

Поведенческие тестирования проводились в интервале с 10 до 15 часов. Поведение мышей всех экспериментальных групп исследовали в последовательном режиме один тест в день.

#### **Тест «Открытое поле»**

Определения уровня ориентировочно-исследовательского поведения (ОИП) проводилось в тесте «открытое поле» [Буреш, 1991]. Для этого использовалась стандартная установка, которая представляет собой камеру размером 100x100 см, с высокими бортами (40 см). Пол установки расчерчен на равные сектора (10x10см), предназначенные для визуальной регистрации двигательной активности экспериментальных животных. Освещение осуществлялось с помощью бестеневой лампы мощностью 100 Вт, которая расположена над центром поля на высоте 100 см. Животное помещалось в угол камеры, и регистрировалась его моторная и исследовательская активность в течение 5 минут с интервалом в 1 минуту. Для оценки исследовательской активности подсчитывалось количество вертикальных стоек (свободных и пристеночных – с опорой на борт камеры); для оценки моторной активности – количество пересеченных центральных и периферических квадратов. Эмоциональная реактивность определялась по количеству фекальных болюсов.

#### **Тест «Принудительное плавание»**

Депрессивно-подобное поведение мышей оценивалось в тесте принудительного плавания по Порсолту с использованием современного аппаратно-программного комплекса EthoVision XT (Noldus Information Technology, Нидерланды). Тест является чувствительным к действию антидепрессантов и используется для оценки состояния депрессивности у животных [Porsolt, Bertin, 1977; Язуина и др., 2013]. Наиболее релевантным показателем в данном тесте является мобильность животных.

Каждое животное помещали на 6 минут в сосуд, заполненный водой ( $t$  воды  $25^{\circ}\text{C}$ ) до отметки на высоте 30 см. Диаметр сосуда составлял 15 см., высота сосуда – 40 см. В последние 5 минут опыта осуществлялось автоматизированное отслеживания и анализ активности животного, включающий продолжительность активного (энергичные движения всеми лапами) и пассивного (слабые гребки задними лапами) плавания, а также длительность неподвижности – иммобильности, которая отражает состояние отчаяния животного.

### **Тест «Потребление раствора сахарозы» (тест на ангедонию)**

Уровень ангедонии мышей оценивали в тесте потребления сахарозы. Индивидуальное потребление (слизывание) 1% раствора сахарозы и воды мышами-реципиентами в условиях свободного выбора регистрировалось в течение 8 дней методом автоматизированного круглосуточного мониторинга с помощью мультифункциональной системы, поведенческого фенотипирования лабораторных животных IntelliCage (TSE systems, Germany).

### **Статистическая обработка результатов**

Для проведения статистической обработки фактического материала применяли методы статистического анализа с использованием программных пакетов анализа «Statistica 10» for Windows (StatSoft, USA). При проведении сравнений независимых выборок, при числе групп = 2 в случае нормального распределения и равных дисперсий в группах применяли  $t$ -критерий Стьюдента для независимых наблюдений; при отклонении распределения от нормального применяли критерий Манна-Уитни. Различия частот в независимых группах анализировались с помощью точного критерия Фишера. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в исследовании принимался  $p \leq 0,05$ . Объем выполненных исследований позволял оценить результаты с достоверностью 95-99% при использовании соответствующих статистических методов.

## Глава 4. Результаты собственных исследований

### 4.1. Дизайн исследования

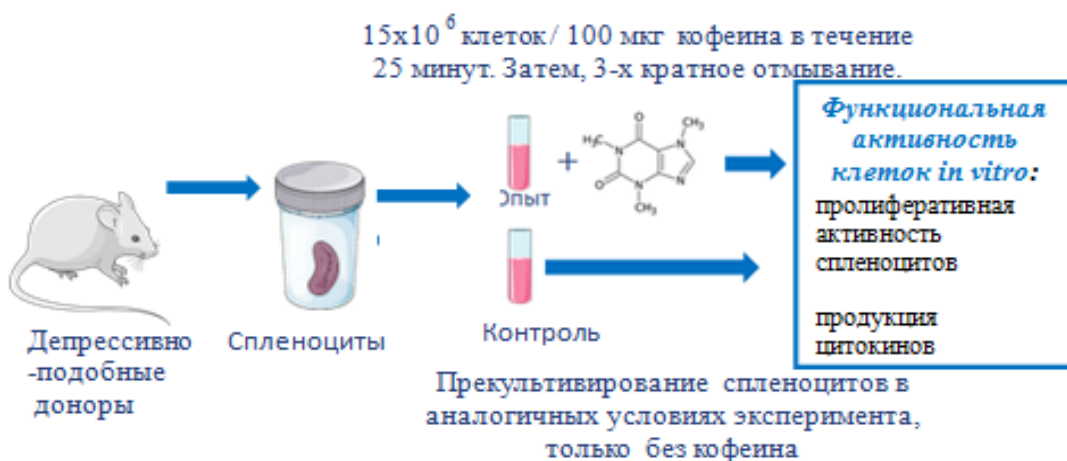
Депрессивно-подобный фенотип был сформирован у самцов (СВА х C57Bl/6)F1 с пассивным типом поведения в тесте «Открытое поле» методом парного дистантного сенсорного контакта в результате 20-кратного опыта «поражений» в межсамцовых конфронтациях с активным партнером. Клетки селезенки, выделенные у животных с депрессивно – подобным фенотипом обрабатывали *in vitro* кофеином; затем, после 3-кратного отмывания, внутривенно вводили сингенным депрессивно-подобным реципиентам. Через 24-48 часов после введения клеток оценивался поведенческий паттерн, структурно-функциональные показатели нервной системы и параметры функциональной активности иммунной системы (Рисунок 5).

## Дизайн исследования

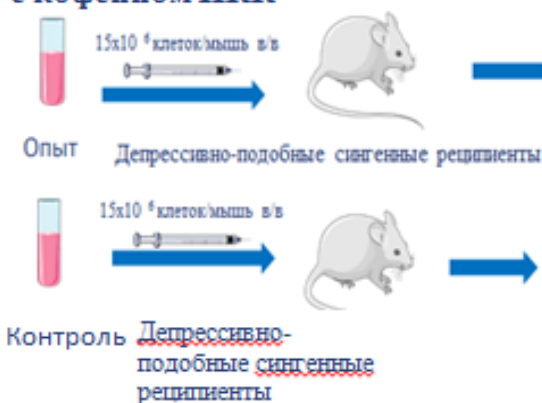
### 1) Отбор животных с пассивным типом ОИП



### 2) Выделение и прекультивирование иммунных клеток



### 3) Трансплантация прекультивированных с кофеином ИКК



### 4) Определение параметров функциональной активности нервной и иммунной систем сингенных реципиентов:

#### Нервная система:

- поведенческий фенотип
- морфологическая картина ядер гиппокампа
- содержание цитокинов BDNF в патогенетически значимых структурах головного мозга

#### Иммунная система:

- интенсивность гуморального и клеточного иммунного ответа;
- пролиферативная активность спленоцитов;

Рисунок 5 - Дизайн исследования.

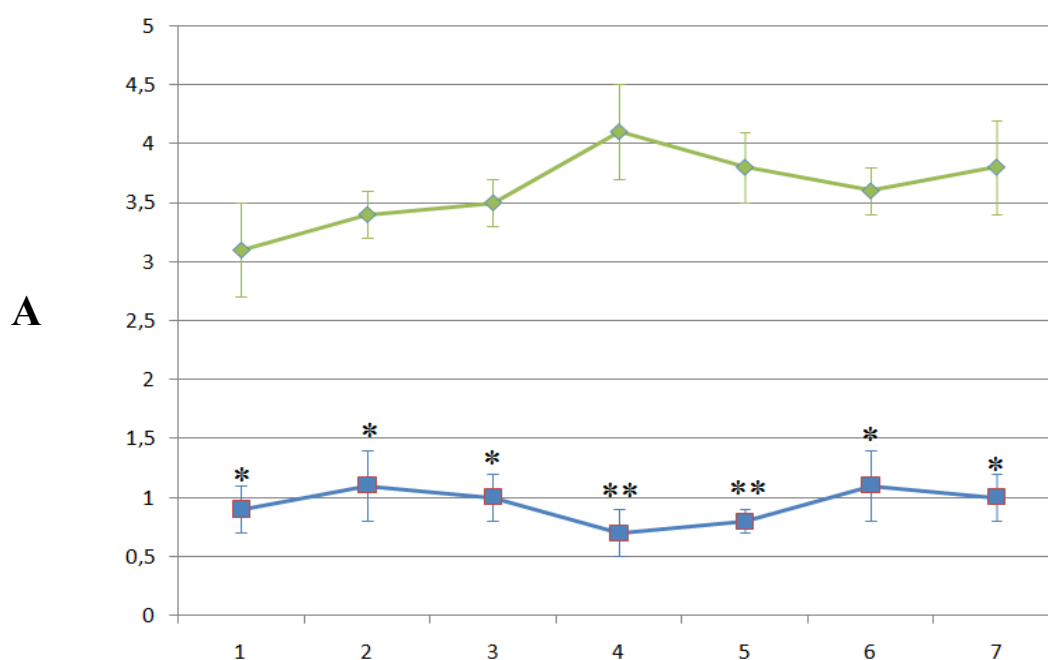
#### **4.2. Оценка сформированности депрессивно-подобного состояния у самцов (CBA×C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях**

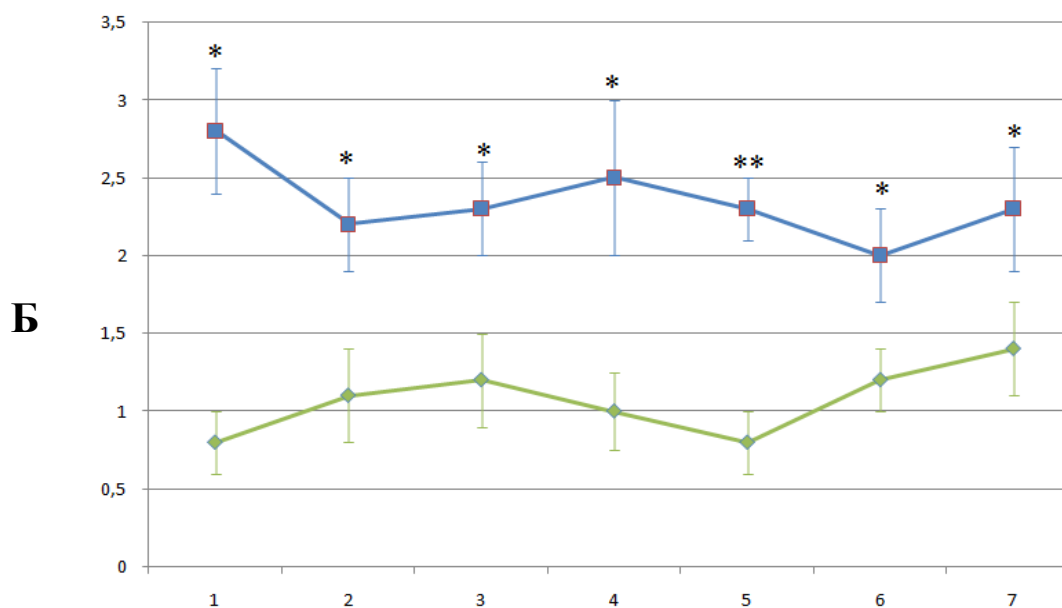
Используемая в работе модель хронического социального конфликта (модель сенсорного контакта) [Kudryavtseva 1998, 2014] рассматривается как наиболее релевантная и перспективная для исследований последствий хронического социального стресса, которая прошла проверку во многих российских и зарубежных научных лабораториях [Borodin et al., 2002, Августинovich и др., 2004; Beitia et al., 2005; Bartolomucci et al., 2009; Duman, 2010; Ambrée et al., 2018 и др.]. В результате 20-кратных ежедневных агонистических взаимодействий у самцов мышей развивается смешанное тревожно/депрессивное расстройство, которое соответствует выполнению всех основных критериев, предложенных для моделей депрессии: сходству этиологии, симптоматики, чувствительности к антидепрессантам и анксиолитикам, нейрохимических изменений с таковыми у людей [Августинovich и др., 2004; Kudryavtseva et al., 2008; Галямина и др., 2016]. Тем не менее, для подтверждения сформированности состояния депрессивности у самцов (CBA x C57BL/6)F1 с пассивным типом поведения после 20-кратного опыта поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях с активным партнером, было проведено поведенческое фенотипирование животных с последующей оценкой ряда структурно- функциональных показателей нервной системы, и параметров функциональной активности иммунной системы, характерных для состояния депрессивности. В качестве группы контроля использовали животных аналогичного возраста с пассивным типом поведения.

## Поведенческое фенотипирование самцов (CBA x C57Bl/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях

### Относительное потребление раствора сахарозы и воды

При оценке сформированности депрессивно-подобного поведения животных была исследована ангедония (отсутствие способности переживать удовольствие, снижение интересов, недостаток энергии, апатия, аффективное уплощение), являющаяся главным симптомом депрессии у людей и состояния депрессивности у лабораторных грызунов [Hasler et al., 2004]. У мышей в качестве гедонического стимула, в основном, используется 1% раствор сахарозы, которому животные отдают предпочтение в условиях свободного выбора с водой. Для анализа этого показателя наиболее распространенным является использование теста на потребление подслащенной жидкости, где снижение потребления раствора сахарозы считается проявлением ангедонии у грызуна [Hasler et al., 2016]. Результаты представлены на рисунках 6,7.





Примечание:

По оси ординат – количество потребляемого 1% раствора сахарозы и воды (мл/мышь).

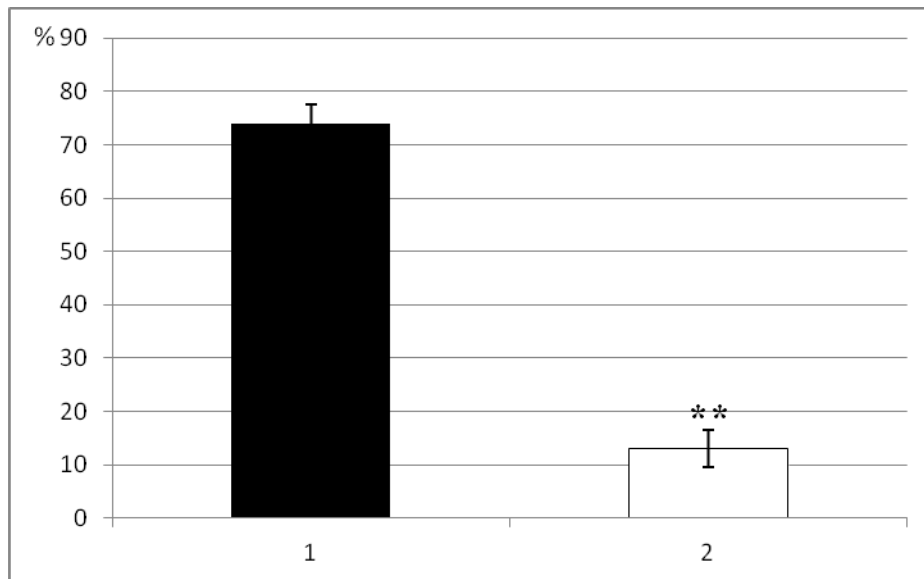
По оси абсцисс - дни тестирования (1-й день - спустя 24 часа после 20-кратного опыта поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях).

— - Контрольная группа интактные самцы (СВА х С57В1/6)F1

— - Опытная группа - самцы (СВА х С57В1/6)F1с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.

n= 12 в каждой группе; \* –  $p < 0.05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  по сравнению с контрольной группой животных.

Рисунок 6 - Динамика потребления 1% раствора сахарозы (А) и воды (Б) у самцов (СВА х С57В1/6)F1с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.



**Примечание:**

Темный столбик - контрольная группа (интактные животные).

Светлый столбик - опытная группа (мыши с опытом 20-кратных поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях).

\*\* -  $p < 0,01$  по сравнению с контрольной группой;  $n=8$  в каждой группе.

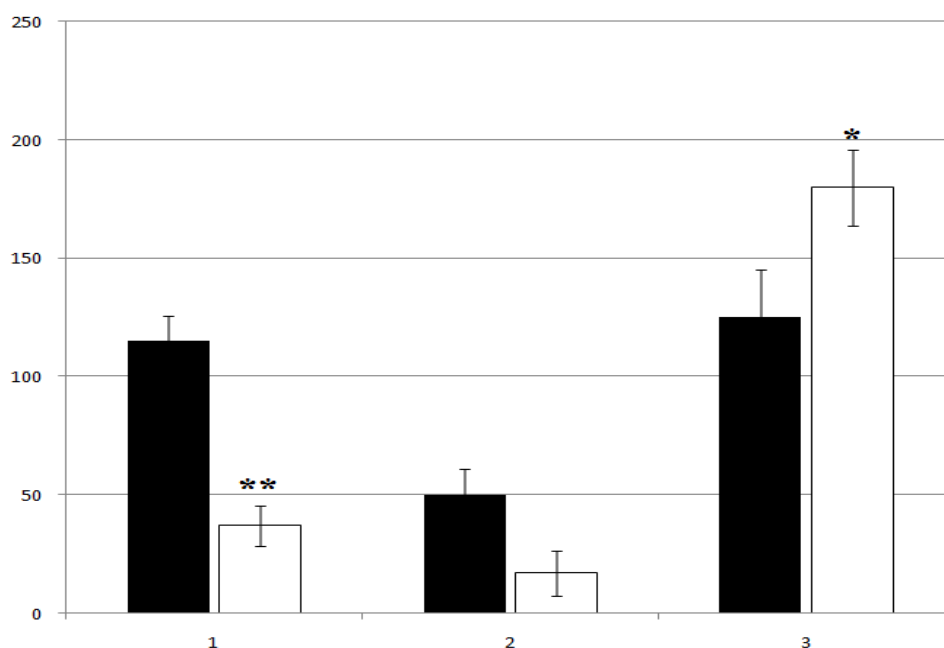
**Рисунок 7 - Относительное потребление 1% раствора сахарозы самцами (CBA×C57BL/6)F1 после 20-кратного опыта поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.**

По результатам теста «Потребление раствора сахарозы» очевидно, что самцы (CBA×C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях потребляли значительно меньше раствора сахарозы, чем животные контрольной группы с пассивным типом поведения без конфронтаций. В процентном отношении от общего количества жидкости потребление раствора сахарозы в опытной и контрольной группах составило, соответственно,  $72,8 \pm 25,7$  и  $12,7 \pm 2,8\%$ , что свидетельствует о наличии у самцов (CBA×C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях выраженной ангедонии.

### **Оценка поведения в тесте «Принудительное плавание»**

При анализе поведения интактных мышей-самцов (контрольная группа) и мышей-самцов (CBA х C57Bl/6)F1 с 20-кратным опытом

поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях (опытная группа) в тесте «Принудительное плавание» по Парсолту отмечено выраженное уменьшение временных периодов высокой активности с тенденцией к снижению периодов умеренной активности, при увеличении периодов полной неподвижности в воде (Рисунок 8).



Примечание:

По оси ординат - совокупная продолжительность периода в составе общей мобильности (%).

1 – высокая активность, 2 – умеренная активность, 3 – неподвижность. Темные столбики – контрольная группа интактных животных.

Светлые столбики – опытная группа животных с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.

Данные представлены в виде  $M \pm SE$ ;  $n = 10$  в каждой группе; \* $p < 0.05$ ; \*\* -  $p < 0.01$  по сравнению с соответствующим показателем в контрольной группе.

Рисунок 8 - Поведение мышей - самцов (CBA×C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях в тесте «Принудительное плавание» по Порсолту.

Значительное снижение периодов высокой активности и увеличение периодов полной неподвижности в воде, регистрируемые у животных

опытной группы, характеризует депрессивно-подобное поведение [Kudryavtseva et al., 1998, 2014].

### **Оценка параметров ориентировочно-исследовательского поведения в тесте «Открытое поле»**

Оценка поведения в «открытом поле» мышей-самцов (CBA×C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях показала существенное снижение двигательной активности в периферических и центральных квадратах поля, а также манежного бега (снижение количества стоек с опорой на стенку поля). Это свидетельствует о характерном для состояния депрессивности снижении исследовательского и преимущественно моторного компонентов ОИП (Таблица 1).

Таблица 1 - Параметры ориентировочно-исследовательского поведения самцов (CBA х C57Bl/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях ( $M \pm SD$ ).

Группы животных	Горизонтальная двигательная активность			Вертикальная двигательная активность		
	периферическая	центральная	суммарная	свободная	с опорой на стенку	суммарная
Контрольная группа (n = 32)	33,4 ± 6,1	3,3 ± 0,7	36,7 ± 6,8	0	2,7 ± 1,4	2,7 ± 1,4
Опытная группа (n = 32)	2,2 ± 0,8**	0**	2,2 ± 0,8**	0	0,6 ± 0,3**	0,6 ± 0,3**

Примечание:

Контрольная группа - интактные животные.

Опытная группа - животные с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях; \*\* -  $p < 0,01$  по сравнению с соответствующими показателями контрольной группы.

Следовательно, использованные в настоящей работе релевантные методики поведенческого фенотипирования лабораторных животных, как

и ожидалось, подтверждают сформированность депрессивно - подобного поведенческого фенотипа у мышей-самцов (CBA×C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.

### **Показатели функциональной активности иммунной системы.**

У самцов (CBA х C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в межсамцовых конфронтациях регистрировалось снижение гуморального иммунного ответа, оцененное как по относительному, так и по абсолютному числу АОК селезенки (Таблица 2).

Таблица 2 – Интенсивность гуморального и клеточного иммунного ответа самцов (CBA×C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях ( $M \pm SD$ ).

Группы реципиентов	Контрольная группа	Опытная группа
Относительное число АОК (АОК/10 <sup>6</sup> )	512,2±104,1	296,5 ± 53,7**
Абсолютное число АОК	106837,4 ± 5884,1	56837,8 ± 6084,2**
Уровень реакции ГЗТ (ИР %)	13,0 ± 3,5	9,6 ± 2,1

Примечание:

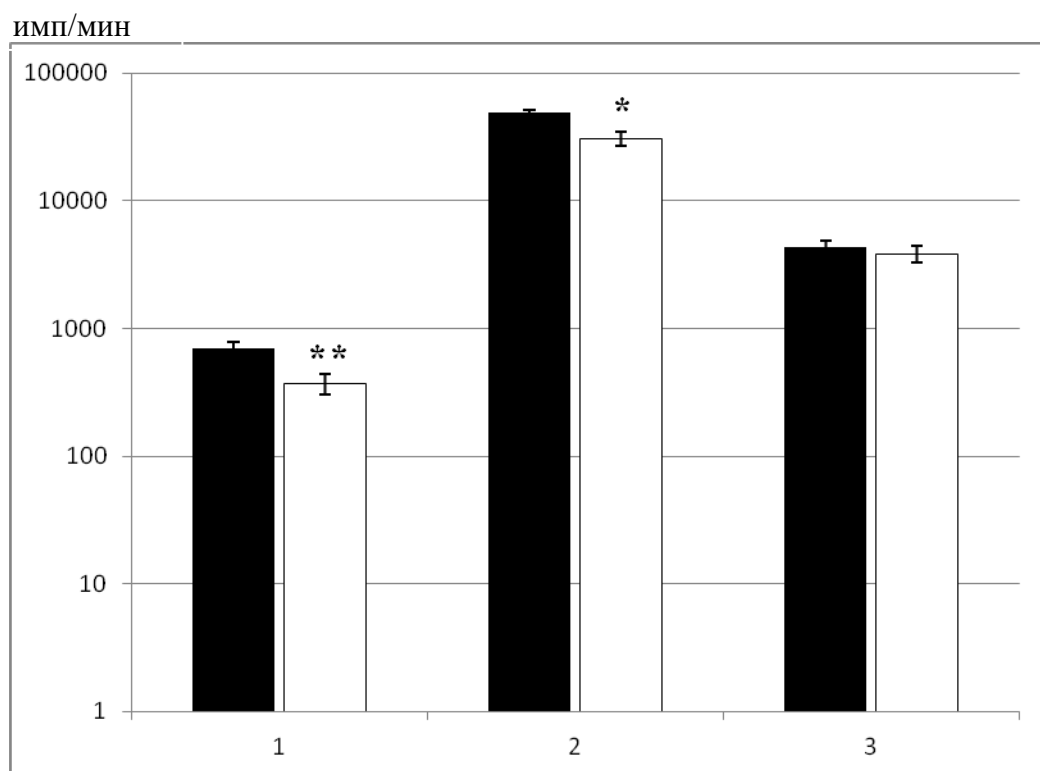
Контрольная группа - интактные животные.

Опытная группа - животные с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях; \*\* -  $p < 0,01$  по сравнению с соответствующими параметрами контрольной группы.

При оценке интенсивности реакции ГЗТ существенных изменений выявлено не было; возможно в силу того, что мыши с пассивным типом поведения у которых формировался депрессивно-подобный фенотип, изначально характеризуются низким уровнем развития реакции ГЗТ, равно

как и аналогичные животные контрольной группы сравнения [Viveros, 2001; Markova 2000, 2012, 2021].

При исследовании пролиферативной активности спленоцитов самцов (СВА х С57В1/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях зарегистрировано характерное для состояния депрессивности у животных снижение спонтанной и КонА-индуцированной пролиферативной активности лимфоцитов (Рисунок 9).



Примечание:

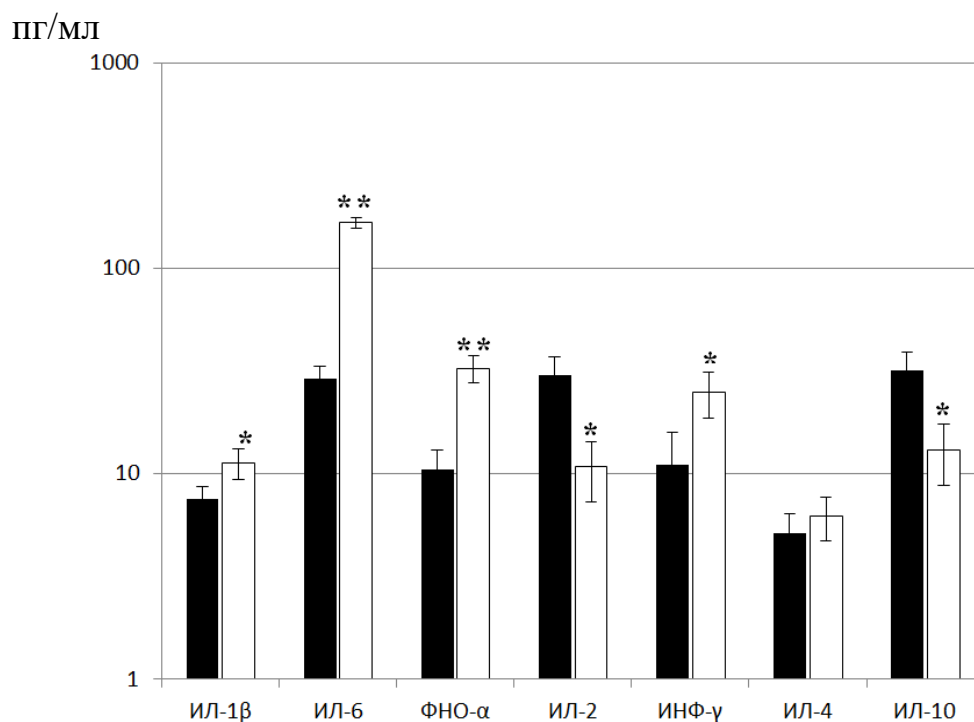
Темные столбики – контрольная группа интактных животных.

Светлые столбики – опытная группа животных с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.

1- спонтанная активность; 2- КонА - индуцированная активность; 3- ЛПС - стимулированная активность; \*-  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  по сравнению с соответствующим показателем в группе интактных животных.

Рисунок 9 - Пролиферативная активность спленоцитов самцов (СВА×С57В1/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.

Оценка спонтанной продукции ряда патогенетически значимых для состояния депрессивности цитокинов спленоцитами самцов (СВА х С57В1/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях показала повышение в культуральном супернатанте содержания ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$  и снижение ИЛ-2, ИЛ-10 (Рисунок 10).



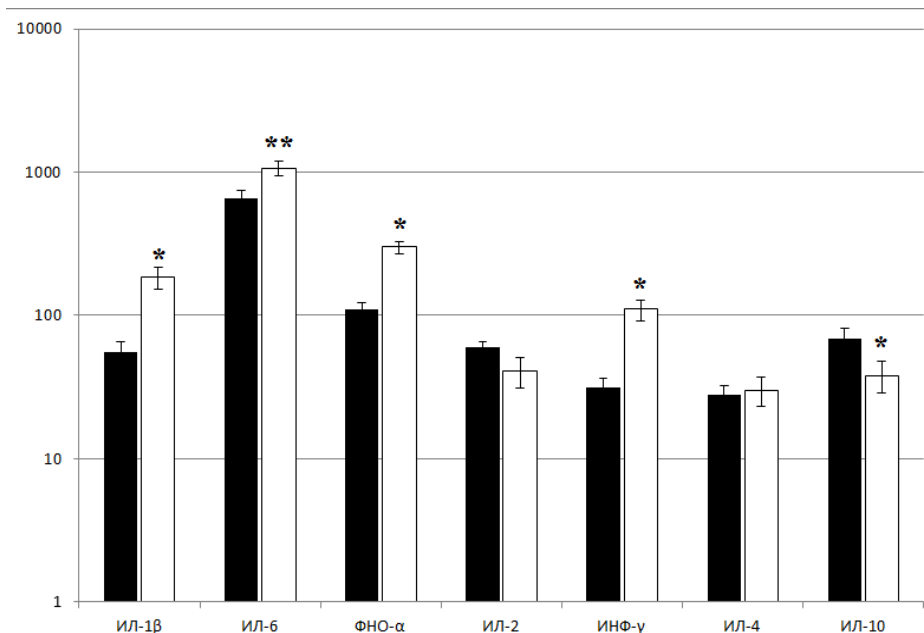
Примечание:

Темные столбики - контрольная группа клеток интактных животных. Светлые столбики - опытная группа клеток мышей с 20-кратным опытом поражений; \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  по сравнению с соответствующим контролем.

Рисунок 10 - Спонтанная продукция цитокинов (пг/мл) спленоцитами самцов (СВА х С57В1/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.

При оценке стимулированной продукции спленоцитами цитокинов показано повышение уровней провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$  и снижение противовоспалительного ИЛ-10 (Рисунок 11).

пг/мл



#### Примечание:

Темные столбики - контрольная группа клеток интактных животных. Светлые столбики - опытная группа клеток мышей с 20-кратным опытом поражений; \* -  $p < 0,05$ ; \* \* -  $p < 0,01$  по сравнению с соответствующим контролем.

Рисунок 11 - Митоген- стимулированная продукция цитокинов (пг/мл) спленоцитами самцов (CBA x C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.

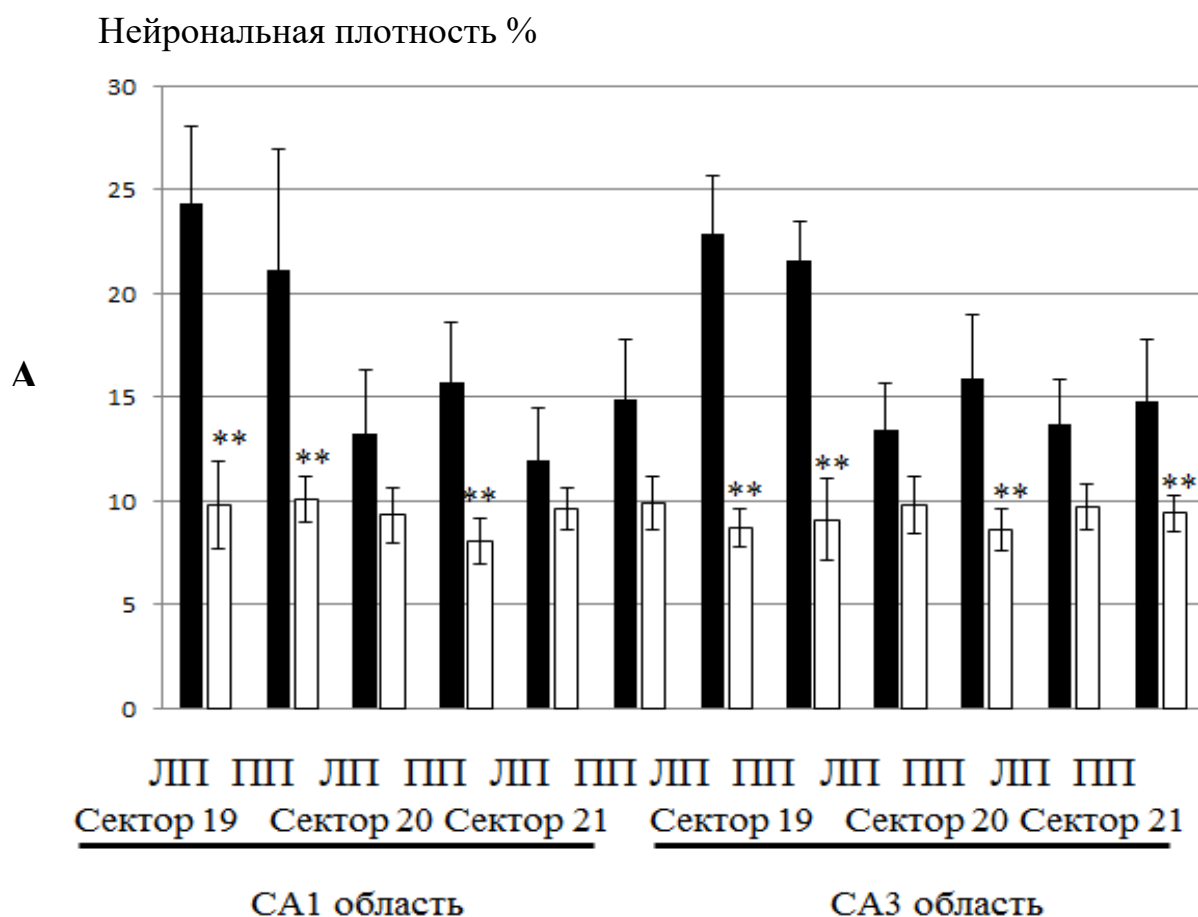
Следовательно, у самцов (CBA x C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в межсамцовых конфронтациях наблюдаются характерные для состояния депрессивности снижение гуморального иммунного ответа *in vivo*, пролиферативной активности спленоцитов *in vitro* и изменение спонтанной и стимулированной митогенами продукции этими клетками цитокинов преимущественно в сторону повышения провоспалительных цитокинов ИЛ-1β, ИЛ-6, ИНФ-γ, ФНО-α.

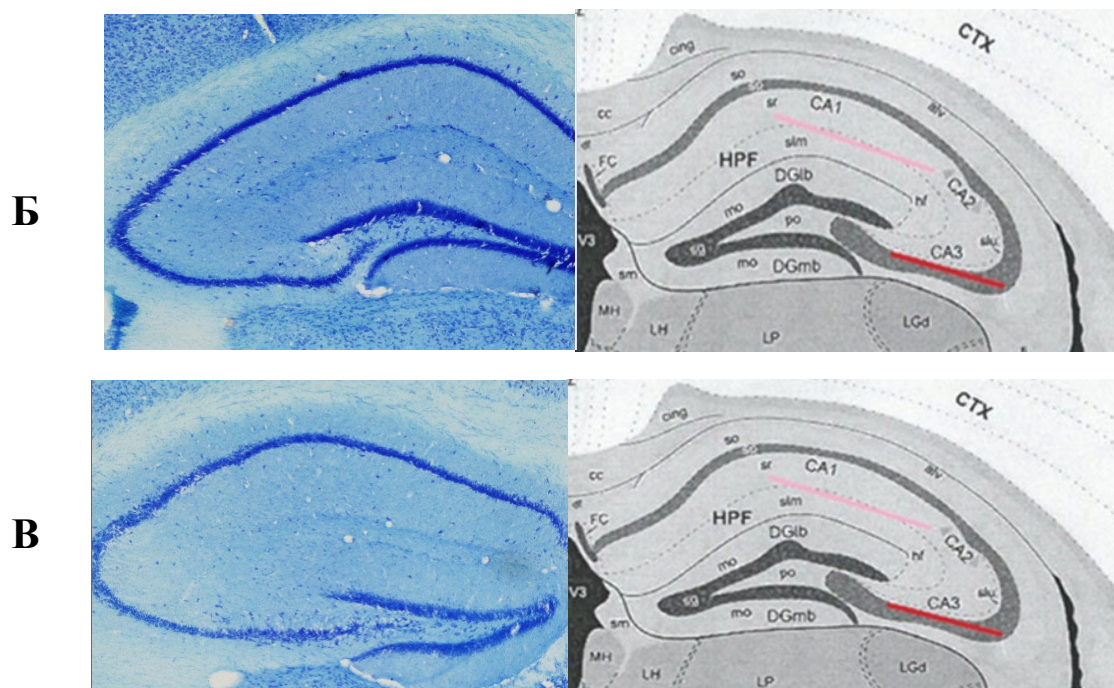
#### Структурно-функциональные показатели нервной системы.

При депрессивных расстройствах, вызванных хроническим психологическим стрессом, снижение когнитивных функций обусловлено нейродегенеративными и нейровоспалительными

изменениями в головном мозге. Гиппокамп является ключевой анатомической областью мозга, связанной с депрессией: при депрессивных расстройствах отмечается снижение объема гиппокампа, обусловленное уменьшением плотности пирамидных нейронов CA1 и CA3 полей. Апоптоз нейронов этих областей - один из патогенетических механизмов когнитивных нарушений при депрессии [Tang, 2016; Bhattacharya, 2017; Roddy, 2018; Wenbo Xu, 2020].

У мышей-самцов (CBA x C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях также показано снижение плотности пирамидных нейронов в вышеуказанных областях гиппокампа (Рисунок 12).





Примечание:

Цифровое обозначение секторов полей CA1, CA3 гиппокампа соответствует уровням срезов относительно брегмы, согласно гистологическому атласу мозга мыши (по Paxinos G., Franklin K.B.J. Paxinos and Franklin's the mouse brain in stereotaxic coordinates, 2013).

А: Темные столбики - контрольная группа intactных животных.

Светлые столбики -опытная группа- самцы (CBA x C57BL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений; n=11-17 в каждой группе;\* \* -  $p < 0,01$  по сравнению с соответствующим контролем.

Микрофотографии коронарных срезов гиппокампа, окрашенные по Ниссию. Увеличение - 100 $\times$ , шкала – 50  $\mu$ m.

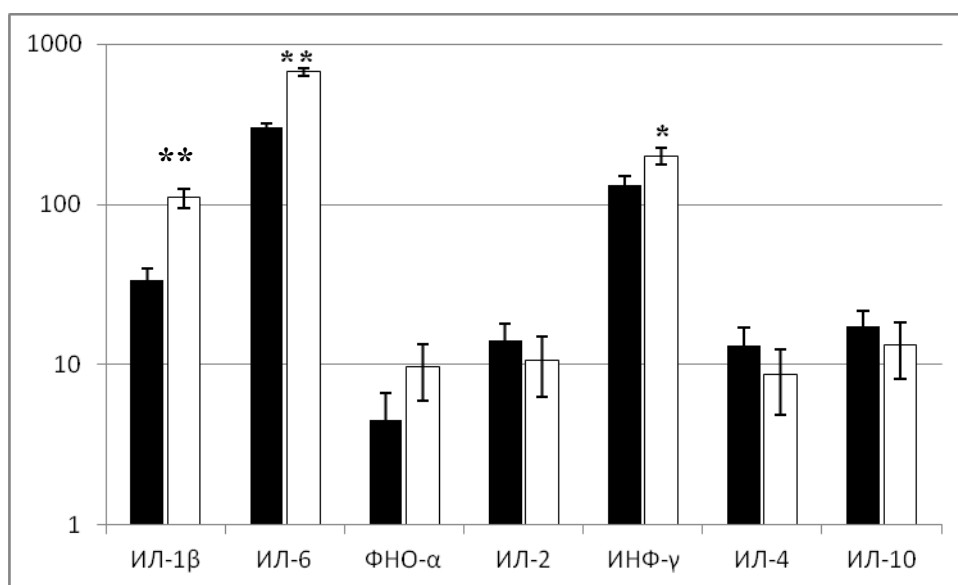
Б - срез контрольного образца (левый гиппокамп intactных мышей-самцов)

В - срез опытного образца (левый гиппокамп мышей-самцов с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях).

Рисунок 12 - Плотность пирамидных нейронов (%) полей CA1, CA3 гиппокампа в правом и левом полушариях головного мозга самцов (CBAxC57BL/6) F1 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.

Наблюдаемые нейродегенеративные процессы в гиппокампе регистрировались на фоне изменения содержания ряда регуляторных

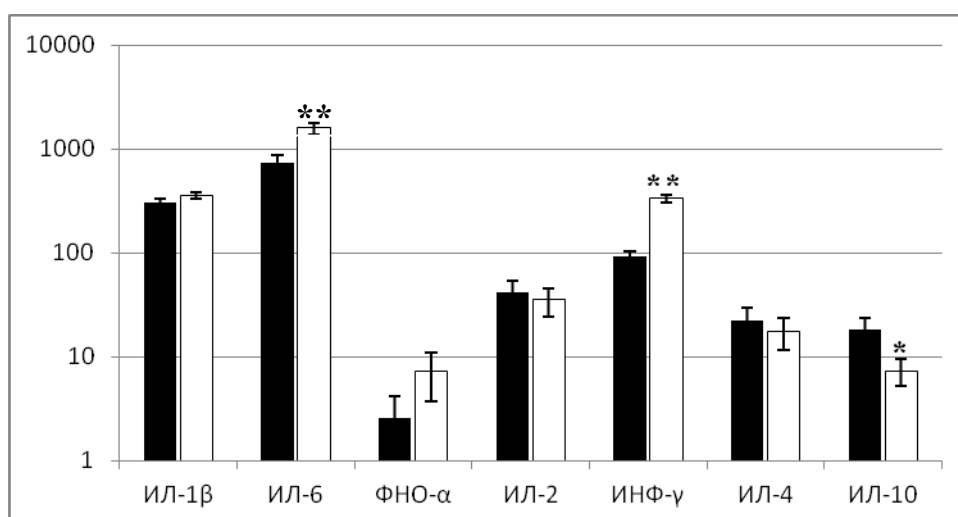
цитокинов в патогенетически значимых для указанного состояния структурах ГМ (в гипоталамусе: повышение ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИНФ $\gamma$ ; в гиппокампе: повышение ИЛ-6, ИНФ $\gamma$  и снижение ИЛ-10; в префронтальной коре: повышение ФНО- $\alpha$  и ИНФ $\gamma$ ; в стриатуме повышение ИЛ-1 $\beta$ , снижение ИЛ-10) у самцов (СВА х С57ВL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях (Рисунки 13-16).



**Примечание:**

Темные столбики – образцы контрольной группы интактных животных. Светлые столбики – образцы опытной группы мышей с 20-кратным опытом поражений; \* -  $p < 0,05$ ; \* \* -  $p < 0,01$  по сравнению с соответствующим контролем.

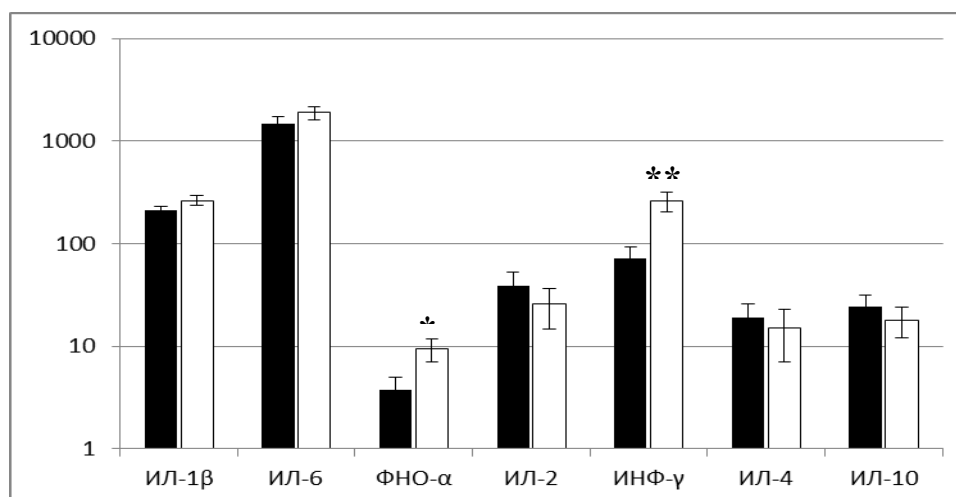
Рисунок 13 - Содержание цитокинов (пг/мг ткани) в гипоталамусе самцов (СВА х С57ВL/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.



Примечание:

Темные столбики – образцы контрольной группы интактных животных. Светлые столбики – образцы опытной группы мышей с 20-кратным опытом поражений; \* -  $p < 0,05$ ; \* \* -  $p < 0,01$  по сравнению с соответствующим контролем.

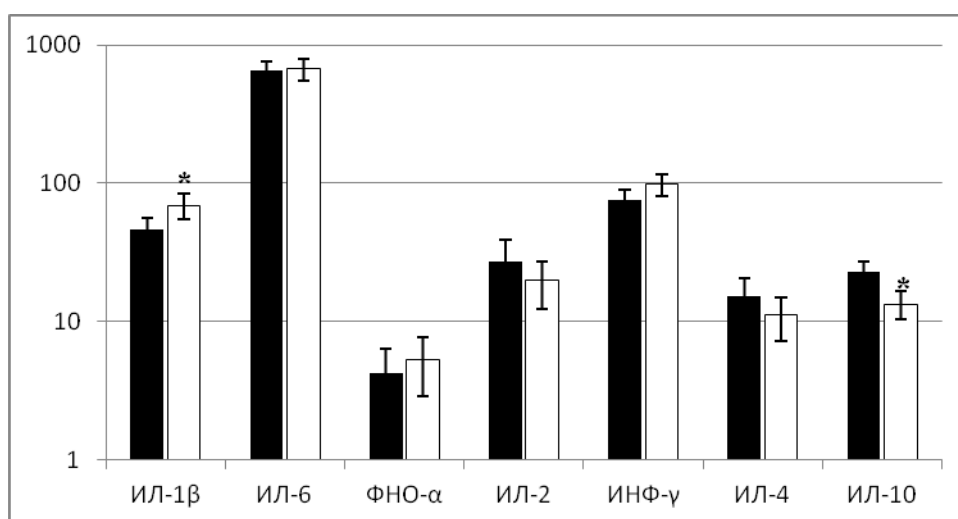
Рисунок 14 - Содержание цитокинов (пг / мг ткани) в гиппокампе самцов (СВА х С57Вl/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.



Примечание:

Темные столбики – образцы контрольной группы интактных животных. Светлые столбики – образцы опытной группы мышей с 20-кратным опытом поражений; \* -  $p < 0,05$ ; \* \* -  $p < 0,01$  по сравнению с соответствующим контролем

Рисунок 15 - Содержание цитокинов (пг/ мг ткани) в префронтальной коре самцов (СВА х С57Вl/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.



Примечание:

Темные столбики – образцы контрольной группы интактных животных. Светлые столбики – образцы опытной группы мышей с 20-кратным опытом поражений; \* -  $p < 0,05$ ; по сравнению с соответствующим контролем

Рисунок 16 - Содержание цитокинов (пг/ мг ткани) в стриатуме самцов (СВА х С57В1/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях.

Повышение ряда провоспалительных цитокинов в патогенетически значимых для состояния депрессивности структурах мозга свидетельствует, как и ожидалось, о развитии нейровоспаления.

Таким образом, проведенное исследование подтвердило релевантность используемой модели в отношении формирования депрессивно - подобного состояния у самцов (СВА х С57В1/6)F1 с 20-кратным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях, что позволяет использовать этих животных в дальнейших исследованиях.

На основании установленных фактов, свидетельствующих о том, что трансплантация ИКК с различной функциональной активностью, в том числе и модулированной психоактивным веществом, половозрелым сингенным реципиентам сопровождается у последних направленными

изменениями функциональной активности иммунной и нервной систем и, в частности, поведения [Markova, 1999 - 2023; Маркова, 2002 - 2013]; лимфоциты после адоптивного переноса способны модулировать поведение и когнитивные функции, в том числе и путем непосредственного контакта с клетками ЦНС [Markova, 2009; Rattazzi, 2013; Radjavi, 2014; Song, 2016; Clark, 2016, 2018]; а также, принимая во внимание тот факт, что состояние депрессивности сопровождается изменением функциональной активности ИКК, подтвержденное и в собственных исследованиях, была выдвинута гипотеза, постулирующая возможность редактирования депрессивно-подобного фенотипа трансплантацией сингенных иммунокомпетентных клеток с модулированной *ex vivo* функциональной активностью. Результаты экспериментальных исследований, направленных на проверку указанной гипотезы, представлены в нижеследующих разделах настоящей главы.

Принимая во внимание выраженные иммуномодулирующие свойства кофеина, в том числе рецептор-опосредованную модуляцию функциональной активности ИКК различных типов, включая спленоциты [Anzari et al., 2017; Açıkalın, 2021], а также тот факт, что психоактивные вещества оказывают однонаправленное влияние на клетки иммунной и нервной систем, теоретически обоснованной является возможность применения кофеина для модуляции *ex vivo* функциональной активности спленоцитов, нарушенной при депрессивно-подобном состоянии, с последующим использованием прекультивированных с кофеином ИКК с целью редактирования депрессивно- подобного фенотипа.

Для этого была определена оптимальная доза кофеина для обработки спленоцитов *in vitro*. Спленоциты депрессивно-подобных самцов (CBA×C57BL/6)F1 ( $15 \times 10^6$  клеток) обрабатывали *in vitro* кофеином в различных дозах (10 - 2000 мкг) в присутствии 3% FCS (Hyclone) в течение 25 минут. Прекультивированные с кофеином клетки селезенки после 3-кратного отмывания внутривенно вводили сингенным депрессивно-

подобным реципиентам (CBA×C57BL/6)F1 в концентрации  $15 \times 10^6$  клеток в объеме 0,3 мл физиологического раствора на одно животное. Оценивали параметры поведения в «открытом поле» сингенных депрессивно-подобных реципиентов (Таблица 3).

Таблица 3 - Параметры ориентировочно-исследовательского поведения депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации сингенных спленоцитов, прекультивированных с различными дозами кофеина ( $M \pm SD$ ).

Группы депрессивно-подобных реципиентов	Горизонтальная двигательная активность			Вертикальная двигательная активность		
	периферическая	центральный	суммарная	свободная	с опорой на стенку	суммарная
контроль (n = 29)	$1,9 \pm 2,8$	0	$1,9 \pm 2,8$	0	$0,4 \pm 0,7$	$0,4 \pm 0,7$
опыт 1 (n = 21)	$72,5 \pm 9,1^*$	$0,8 \pm 2,8^*$	$73,3 \pm 88,6^*$	$3,6 \pm 4,9^*$	$0,8 \pm 1,9^*$	$4,4 \pm 6,1^*$
опыт 2 (n = 21)	$98,5 \pm 126,0^*$	$0,2 \pm 0,6$	$93,9 \pm 127,4^*$	$0,3 \pm 0,9$	$2,8 \pm 3,1^*$	$3,0 \pm 3,1^*$
опыт 3 (n = 12)	$25,5 \pm 26,6^*$	0	$25,5 \pm 26,6^*$	$0,3 \pm 1,2$	$0,7 \pm 1,2$	$1,0 \pm 2,1$
опыт 4 (n = 14)	$6,2 \pm 13,9$	0	$6,2 \pm 13,9$	$0,5 \pm 1,2$	0	$0,5 \pm 1,2$
опыт 5 (n = 19)	$0,8 \pm 2,9$	0	$0,8 \pm 2,9$	$0,1 \pm 0,5$	$0,01 \pm 0,2$	$0,16 \pm 0,68$

Примечание:

Контроль - трансплантация спленоцитов, прекультивированных без кофеина  
 Опыт 1 - трансплантация спленоцитов, обработанных *in vitro* кофеином, из расчета  $15 \times 10^6$  клеток/10 мкг/кофеина.

Опыт 2 - трансплантация спленоцитов, обработанных *in vitro* кофеином, из расчета  $15 \times 10^6$  клеток/100 мкг/кофеина.

Опыт 3 - трансплантация спленоцитов, обработанных *in vitro* кофеином, из расчета  $15 \times 10^6$  клеток/500 мкг/кофеина.

Опыт 4 - трансплантация спленоцитов, обработанных *in vitro* кофеином, из расчета  $15 \times 10^6$  клеток/1000 мкг/кофеина.

Опыт 5 - трансплантация спленоцитов, обработанных *in vitro* кофеином, из расчета  $15 \times 10^6$  клеток/2000 мкг/кофеина.

\* -  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой животных.

Как следует из приведенной таблицы 3, стимуляция двигательной активности в «открытом поле» регистрировалась после трансплантации

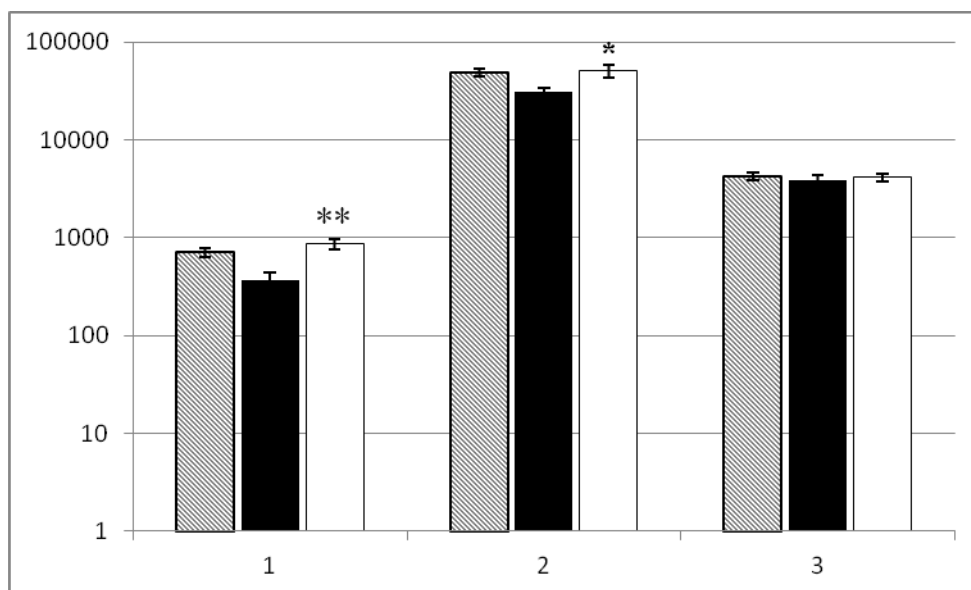
спленоцитов, прекльтивированных с кофеином в дозах 10 - 500 мкг; трансплантация спленоцитов, прекльтивированныхс кофеином в дозе 1000 мкг и выше вызывала у реципиентов дезорганизацию поведения. В силу чего, в дальнейших исследованиях, в качестве оптимальной для обработки трансплантируемых ИКК селезенки *ex vivo*, была выбрана доза кофеина 100 мкг/ $15 \times 10^6$  клеток, с максимально выраженным стимулирующим параметры ОИП депрессивно-подобных реципиентов эффектом.

### 4.3. Характеристика трансплантируемых клеток

Селезенка, является самым крупным периферическим лимфоидным органом. Центральнo-опосредованные стрессовые реакции влияют на иммунные функции селезенки посредством прямой симпатической иннервации (за счет нервов, происходящих из верхнего брыжеечно-чревного ганглия) [Bellinger et al., 2018]. При моделировании депрессивно-подобного фенотипа авторами методики именно в селезенке были отмечены выраженные как иммуносупрессивные, так и, возможно, компенсаторные реакции [Кудрявцева и др.,2017], что и обусловило выбор спленоцитов в качестве трансплантируемых клеток. Для трансплантации использовались сингенные спленоциты депрессивно-подобных самцов (СВАхС57BL/6) F1 после обработки клеток *ex vivo* кофеином в оптимальной концентрации ( $15 \times 10^6$  клеток / 100 мкг/ мышь).

Показано, что прекультивирование с кофеином, достоверно повышает функциональную активность спленоцитов депрессивно-подобных самцов (СВАхС57BL/6)F1, что проявляется в стимуляции сниженной при состоянии депрессивности пролиферативной активности клеток (спонтанной и Кон-А индуцированной) (Рисунок 17).

ИМП/МИН



Примечание:

Столбики со штриховкой - спленоциты интактных животных, не подвергавшихся агонистическим взаимодействиям.

Темные столбики - спленоциты депрессивно-подобных животных.

Светлые столбики - спленоциты депрессивно-подобных животных после обработки кофеином (100 мкг /15x10<sup>6</sup> клеток).

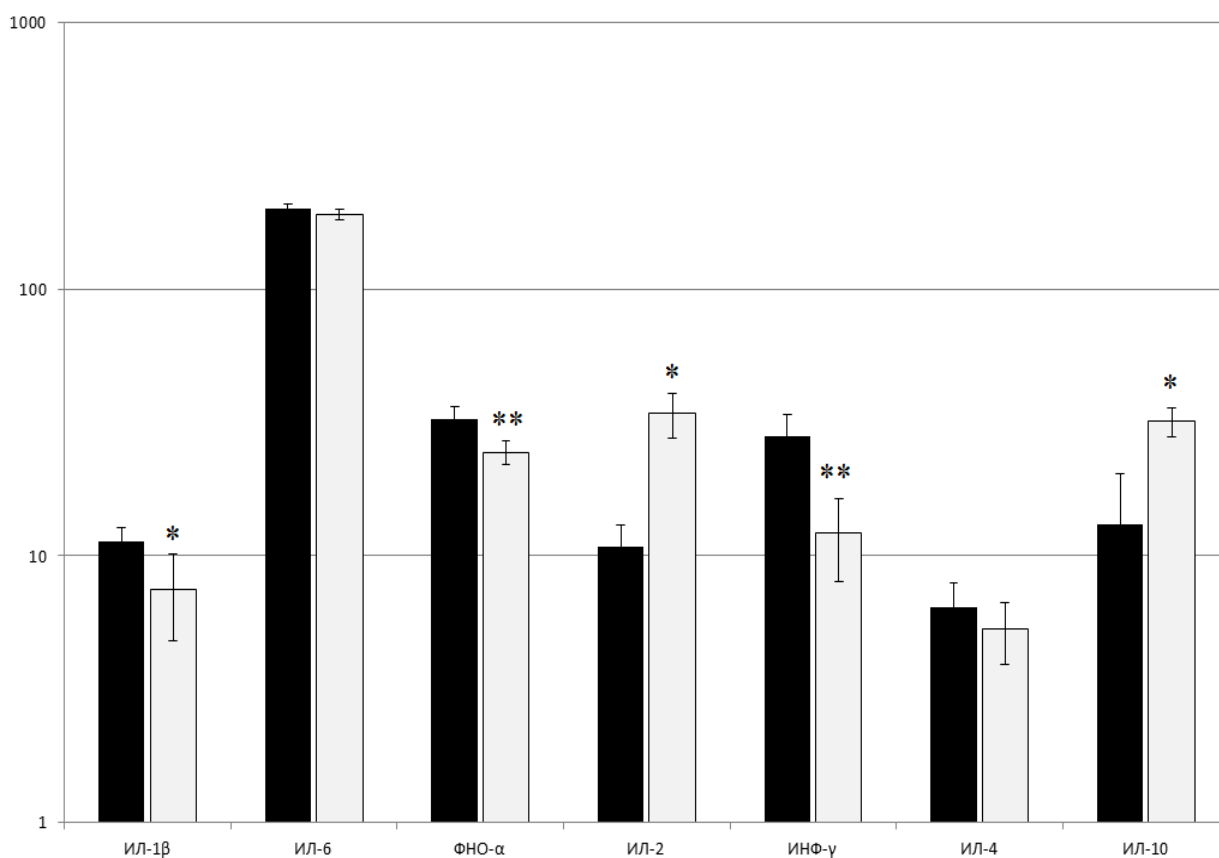
1-спонтанная активность; 2- Кона - индуцированная активность; 3- ЛПС - стимулированная активность; \*-  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$  по сравнению с соответствующим показателем у депрессивно-подобных животных.

Рисунок 17 - Пролиферативная активность (имп / мин) спленоцитов самцов (CBAx C57BL/6)F1 в депрессивно-подобном состоянии после обработки клеток *ex vivo* кофеином (100 мкг /15x10<sup>6</sup> клеток).

Связывание кофеина вероятно с A1A и A2A рецепторами, присутствующими на спленоцитах, запускает каскад внутриклеточных реакций, изменяющих в частности, синтез и продукцию цитокинов, в силу чего, была произведена оценка продукции ряда цитокинов прекультивированными с кофеином спленоцитами депрессивно-подобных самцов (CBAx C57BL/6)F1. В процессе исследования установлено, что после обработки *in vitro* кофеином регистрировалось снижение спонтанной

продукции спленocyтaми ИЛ-1 $\beta$ , ИНФ- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  при достоверном повышении продукции ИЛ-2 и ИЛ-10 (Рисунок 18).

пг/мл



Примечание:

Темные столбики – контрольная группа клеток (прекультивированные без кофеина).

Светлые столбики – опытная группа клеток (прекультивированные с кофеином (100 мкг / 15 млн. клеток));

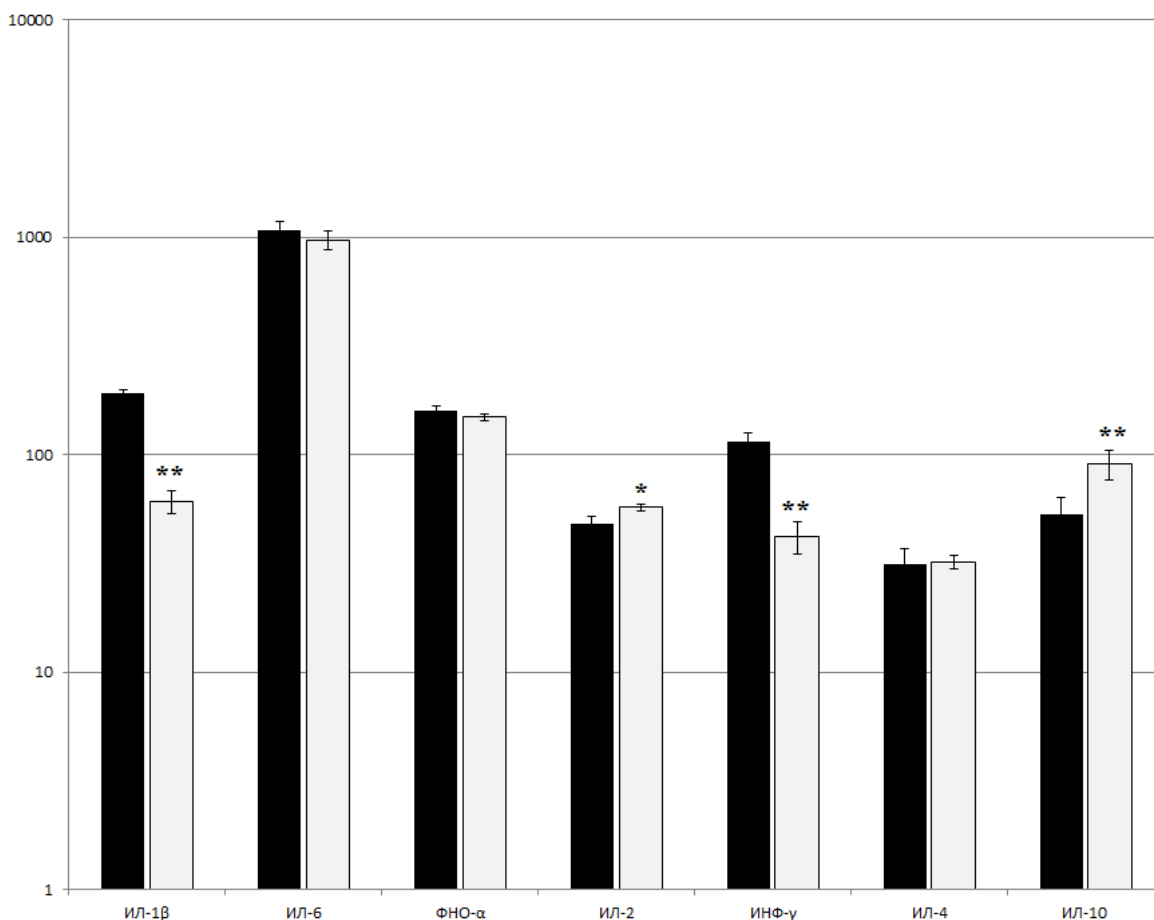
\* -  $p < 0,05$ ; \* \* -  $p < 0,01$  по сравнению с соответствующим контролем.

Рисунок 18 - Спонтанная продукция цитокинов (пг/мл)

обработанными *in vitro* кофеином спленocyтaми депрессивно-подобных самцов (CBA x C57BL/6)F1.

После стимуляции митогенами было зарегистрировано снижение продукции спленocyтaми ИЛ-1 $\beta$ , ИНФ- $\gamma$  и повышение ИЛ-10 (Рисунок 19).

пг/мл



Примечание:

Темные столбики - контрольная группа клеток (прекультивированные без кофеина).

Светлые столбики - опытная группа клеток (прекультивированные с кофеином (100 мкг / 15 млн. клеток));

\* -  $p < 0,05$ ; \* \* -  $p < 0,01$  по сравнению с соответствующим показателем в контрольной группе.

Рисунок 19 - Митоген-стимулированная продукция цитокинов (пг/мл) обработанными *in vitro* кофеином спленocyтaми депрессивно-подобных самцов (CBA x C57BL/6)F1.

Следовательно, кофеин в условиях *in vitro* модулирует функциональную активность спленocyтoв депрессивно-подобных самцов (CBA x C57BL/6)F1, что выражается в изменении пролиферативной активности клеток и продукции ими ряда цитокинов.

Ниже будут представлены результаты исследований, демонстрирующих влияние трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином спленоцитов депрессивно-подобных доноров на поведенческий фенотип и функциональную активность иммунной и нервной систем сингенных депрессивно-подобных реципиентов.

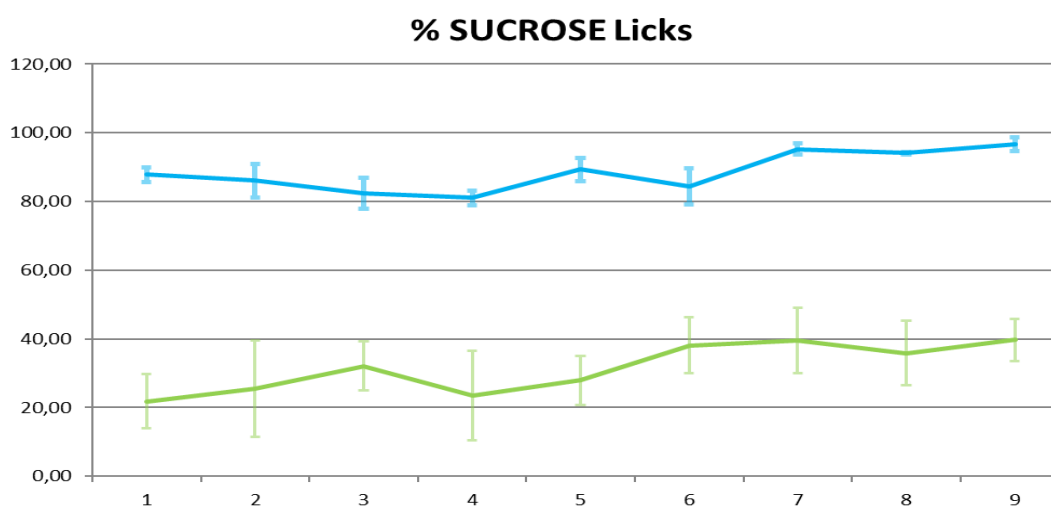
#### **4.4. Влияние трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином иммунокомпетентных клеток на поведение, показатели функциональной активности иммунной и нервной систем у сингенных депрессивно-подобных реципиентов**

У всех депрессивно-подобных реципиентов (CBA x C57BL/6)F1 спустя 24 часа после клеточной трансплантации проводилось поведенческое фенотипирование и оценка ряда структурно-функциональных показателей нервной системы (морфологическая картина ядер гиппокампа, содержание цитокинов и нейротрофического фактора BDNF в патогенетически значимых для депрессии структурах ГМ), равно как и параметров функциональной активности иммунной системы (гуморальный и клеточный иммунный ответ *in vivo*; пролиферативная активность, внутриклеточное содержание цитокинов и уровень триптофана, продукция цитокинов спленocyтaми *in vitro*). Контрольную группу депрессивно-подобных реципиентов составили мыши, которым трансплантировали спленocyтaты, прекультивированные в аналогичных условиях эксперимента, только без присутствия кофеина.

##### **4.4.1. Поведенческий фенотип реципиентов**

У депрессивно-подобных сингенных реципиентов (CBA x C57BL/6)F1 через 24 часа после трансплантации спленocyтaтов, прекультивированных с кофеином, наблюдалось предпочтение

потребления раствора сахарозы (в процентном отношении от общего количества потребляемой жидкости) по сравнению с контрольной группой реципиентов ( $87,8 \pm 2,0$  и  $27,5 \pm 11,8$  соответственно;  $p < 0,01$ ). Различия по данному показателю между указанными группами сингенных депрессивно-подобных реципиентов регистрировались в течение 9-ти дней тестирования (Рисунок 20), что свидетельствует о снижении ангедонии.



**Примечание:**

Индивидуальное потребление (слизывание) 1% раствора сахарозы сингенными реципиентами в условиях свободного выбора регистрировалось методом автоматизированного круглосуточного мониторинга с помощью мультифункциональной системы, поведенческого фенотипирования лабораторных животных Intelli Cage (TSE systems, Germany).

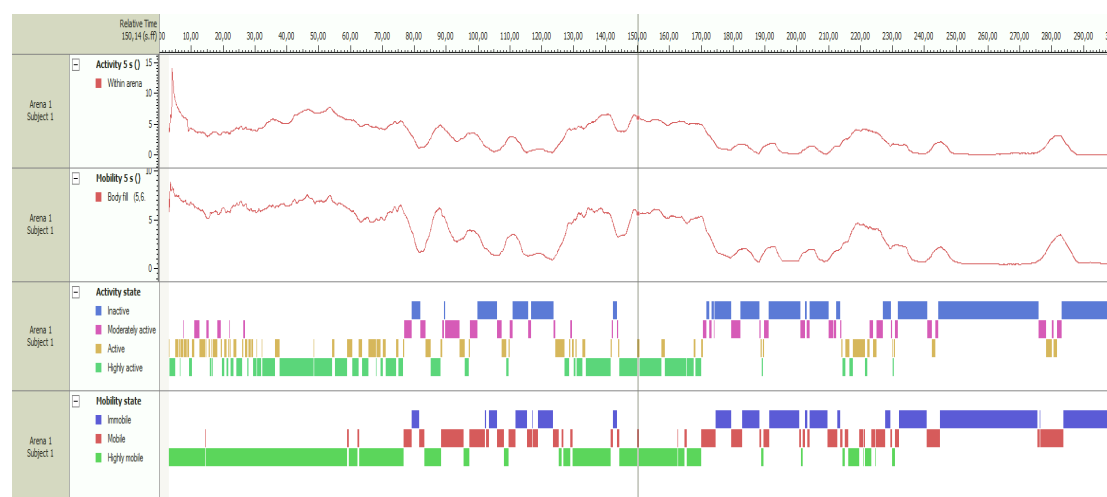
По оси абсцисс – дни тестирования (1-й день - спустя 24 часа после трансплантации клеток).

— - Контрольная группа депрессивно-подобных реципиентов (трансплантация спленоцитов, прекультивированных без кофеина).

— - Опытная группа депрессивно-подобных реципиентов (трансплантация спленоцитов, прекультивированных с кофеином);  $n = 8$  в каждой группе;  $p < 0,01$  по сравнению с контрольной группой на протяжении всего периода тестирования.

Рисунок 20 - Относительное потребление (слизывание) 1% раствора сахарозы депрессивно-подобными реципиентами (CBA×C57BL/6)F1, после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* кофеином.

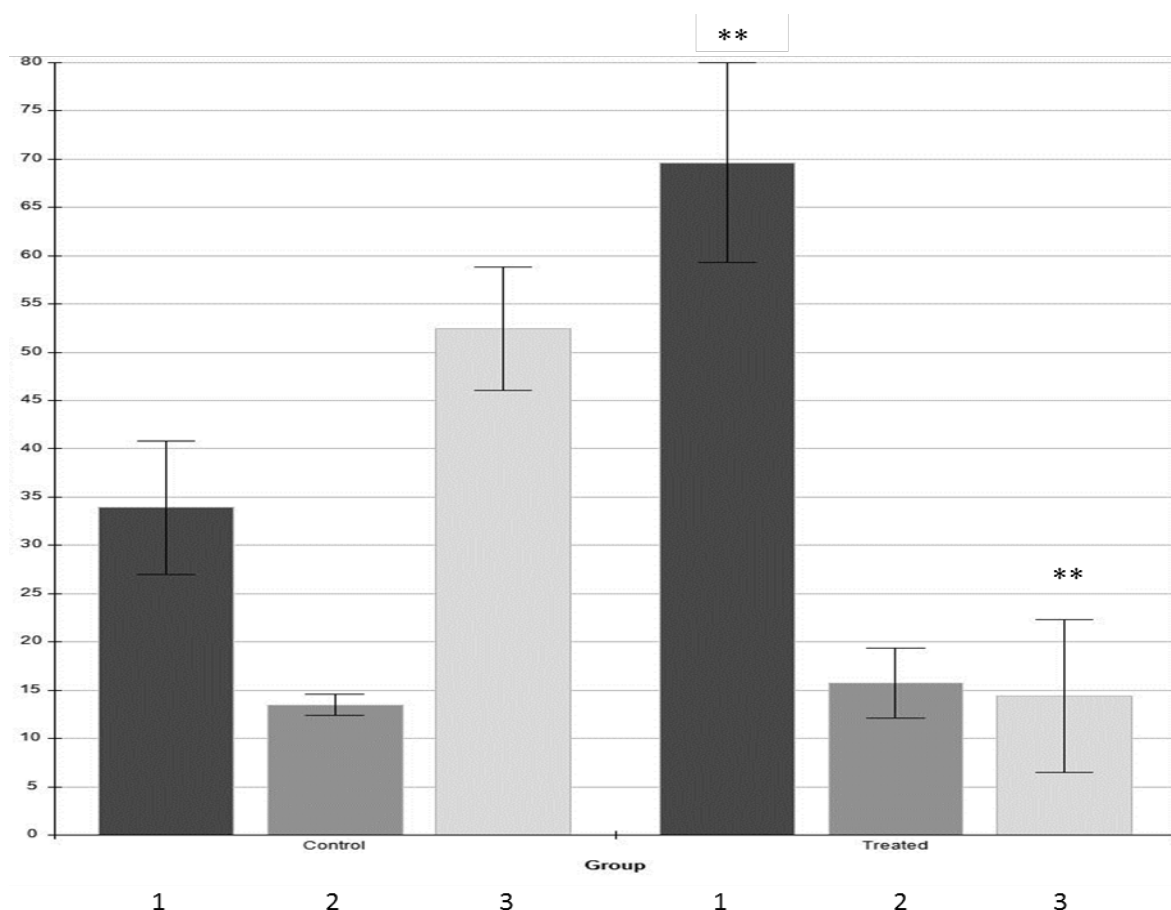
Анализ поведения депрессивно-подобных сингенных реципиентов (CBA x C57BL/6)F1 после трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином спленоцитов в тесте «Принудительное плавание» выявил выраженное увеличение времени активного плавания (мобильности), за счет повышения временных периодов высокой мобильности, при резком снижении периодов пассивного плавания с исчезновением периодов полной неподвижности в воде (Рисунок 21).



**A**



**Б**



## В

### Примечание:

Тестирование проводилось через 24 часа после клеточной трансплантации; время тестирования -5 минут (EthoVision XT, Noldus Information Technology, The Netherlands).

А – Индивидуальное поведение самца контрольной группы депрессивно-подобных реципиентов (трансплантация спленоцитов, прекультивированных без кофеина).

Б - Индивидуальное поведение самца опытной группы депрессивно-подобных реципиентов (трансплантация спленоцитов, прекультивированных с кофеином);

— - периоды умеренной мобильности;

— - периоды высокой мобильности;

— - периоды неподвижности.

В – Влияние модулированных кофеином спленоцитов на поведение депрессивно-подобных реципиентов контрольной (control) и опытной группы (treated).

Данные представлены в виде  $M \pm SE$ .

По оси ординат – совокупная продолжительность периода в составе общей мобильности (%).

1 – высокая мобильности, 2 – умеренная мобильности, 3 – пассивное плавание (дрейф + полная неподвижность);  $n = 10$  в каждой группе; \*\* -  $p < 0.01$

<0,01 по сравнению с соответствующим показателем в контрольной группе реципиентов.

Рисунок 21 - Поведение депрессивно-подобных реципиентов (CBA×C57BL/6)F1 в тесте «Принудительное плавание» после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* кофеином.

Анализ поведения в «открытом поле» депрессивно-подобных реципиентов (CBA×C57BL/6)F1 после трансплантации сингенных спленоцитов, прекультивированных с кофеином, выявил выраженное повышение показателей моторного и исследовательского компонентов ОИП: стимуляцию двигательной активности как в периферических, так и в центральных квадратах поля, появление свободных стоек и увеличение количества стоек с опорой на стенку поля, что свидетельствует о стимуляции ОИП (таблица 4).

Таблица 4 - Параметры ориентировочно-исследовательского поведения депрессивно-подобных реципиентов (CBA×C57BL/6)F1 после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* кофеином.

Группы реципиентов	Горизонтальная двигательная активность			Вертикальная двигательная активность		
	Периферическая	Центральная	Суммарная	Свободная	С опорой на стенку	Суммарная
Контрольная (n = 61)	3,2±2,8	0	3,2±2,8	0	0,2±0,2	0,2±0,2
Опытная (n = 68)	103,0±46,9**	0,7±0,3**	103,7±49,9**	0,4±0,3**	2,5±1,4**	2,9±1,7**

Примечание:

Контрольная группа - депрессивно-подобные реципиенты (трансплантация спленоцитов, прекультивированных без кофеина);

Опытная группа - депрессивно-подобные реципиенты (трансплантация спленоцитов, прекультивированных с кофеином).

Результаты представлены в виде (M ± SD); \*\* - p <0,01 относительно соответствующего показателя в контрольной группе.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о редактировании депрессивно-подобного поведения реципиентов после трансплантации модулированных *in vitro* кофеином сингенных спленоцитов, что проявилось в снижении ангедонии, стимуляции ОИП и активности в тесте «Принудительное плавание».

#### **4.4.2. Показатели функциональной активности иммунной системы реципиентов**

##### **4.4.2.1. Интенсивность гуморального и клеточного иммунного ответа**

Снижение интенсивности иммунного ответа, как указывалось выше, характерно для развития депрессивно-подобного состояния. В процессе исследования установлено, что у депрессивно-подобных реципиентов (СВА х С57BL/6)F1 после трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином сингенных спленоцитов регистрировалась увеличение как относительного, так и абсолютного числа АОК селезенки; при этом каких-либо существенных изменений высоты развиваемой реакции ГЗТ не наблюдалось (таблица 5).

Таблица 5 - Интенсивность гуморального и клеточного иммунного ответа депрессивно- подобных реципиентов (CBA×C57BL/6)F1 после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* кофеином

Параметры	Группы реципиентов	
	Контрольная группа	Опытная группа
Относительное число АОК (АОК/10 <sup>6</sup> )	332,2 ± 74,7	553,6 ± 57,1**
Абсолютное число АОК	69515,4 ± 7678,6	87821,2 ± 6118,6**
Уровень реакции ГЗТ (ИР %)	10,2 ± 2,3	12,1 ± 1,4

Примечание:

Контрольная группа депрессивно-подобных реципиентов (трансплантация спленоцитов, прекультивированных без кофеина).

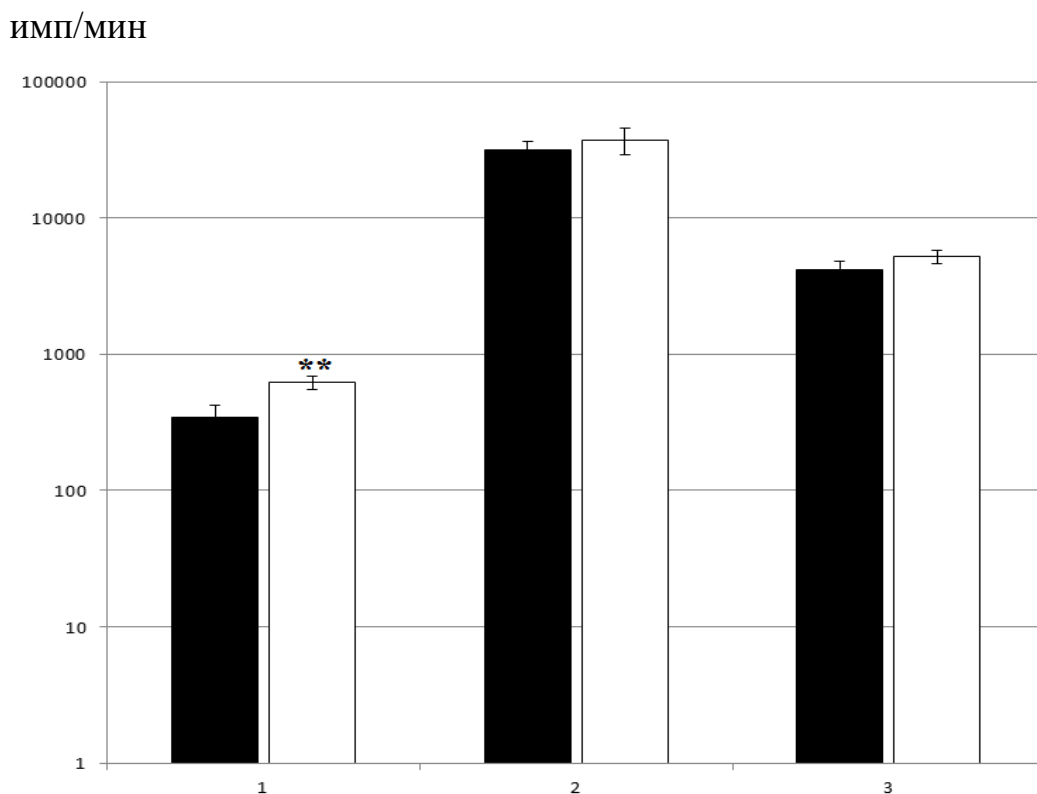
Опытная группа депрессивно-подобных реципиентов (трансплантация спленоцитов, прекультивированных с кофеином).

Результаты представлены в виде  $M \pm SD$ ; \*\* -  $p < 0,01$  относительно соответствующего показателя в контрольной группе.

Следовательно, трансплантация модулированных кофеином спленоцитов вызывает у депрессивно-подобных реципиентов усиление антителобразования в селезенке при системном иммунном ответе.

#### 4.4.2.2. Пролиферативная активность спленоцитов

При исследовании функциональной активности спленоцитов депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином ИКК показана достоверная стимуляция спонтанной пролиферативной активности лимфоцитов в культуре клеток селезенки (Рисунок 22).



Примечание:

■ - Контроль – спленоциты депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации клеток, прекультивированных без кофеина.

□ - Опыт - спленоциты депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации клеток, прекультивированных с кофеином.

1- спонтанная пролиферация лимфоцитов.

2- КонА – индуцированная пролиферация лимфоцитов.

3- ЛПС – стимулированная пролиферация лимфоцитов.

\*\* -  $p < 0,01$  между соответствующими показателями в контрольной и опытной группах клеток.

Рисунок 22 - Проллиферативная активность (имп/мин) спленоцитов депрессивно-подобных реципиентов (CBA×C57BL/6)F1 после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* кофеином.

Следовательно, после трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином спленоцитов у сингенных депрессивно-подобных реципиентов (CBA×C57BL/6)F1 установлено усиление антителобразования в селезенке при системном иммунном ответе и повышение пролиферативной активности спленоцитов, что свидетельствует об иммуностимулирующем эффекте введенных клеток.

#### 4.4.2.3. Продукция цитокинов спленocyтaми

В модели стресс-индуцированного депрессивно-подобного состояния показано, что хронический стресс оказывает провоспалительный эффект - повышает продукцию провоспалительных цитокинов ИКК, в связи с чем, для характеристики функционального состояния спленocyтoв реципиентов была исследована продукция этими клетками ряда патогенетически значимых для состояния депрессивности цитокинов.

В процессе исследования выявлено, что трансплантация модулированных *in vitro* кофеином спленocyтoв депрессивно-подобных самцов (CBA x C57BL/6)F1 вызывает у сингенных депрессивно-подобных реципиентов достоверное снижение спонтанной продукции клетками селезенки цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$  и стимулированной митогенами продукции ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$ . При этом достоверно повышается спонтанная продукция спленocyтaми ИЛ-2, ИЛ-4, спонтанная и стимулированная продукция ИЛ-10 (таблица 6), что указывает на снижение провоспалительной активности спленocyтoв.

Таблица 6 - Продукция цитокинов (пг/мл) спленocyтaми депрессивно-подобных реципиентов (CBA x C57BL/6)F1 после трансплантации сингенных спленocyтoв, модулированных *ex vivo* кофеином

Группа Клеток	ИЛ-1 $\beta$	ИЛ-4	ИЛ-6	ИЛ-10	ИЛ-2	ИНФ- $\gamma$	ФНО- $\alpha$
	Спонтанная продукция						
Контрольная группа	12,1 $\pm$ 3,6	4,3 $\pm$ 1,1	1091,0 $\pm$ 178,1	5,4 $\pm$ 2,1	11,5 $\pm$ 6,1	9,1 $\pm$ 3,9	7,4 $\pm$ 2,6
Опытная группа	4,1 $\pm$ 1,1*	12,2 $\pm$ 4,7*	62,4 $\pm$ 35,2**	27,2 $\pm$ 7,7*	28,7 $\pm$ 8,1*	3,0 $\pm$ 0,3*	5,2 $\pm$ 1,9

Продолжение таблицы 6							
Митоген-стимулированная продукция							
Контрольная группа	27,6±8,7	14,3±8,9	1997,0±268,7	22,9±7,2	140,8±26,1	103,1±13,3	59,4±10,9
Опытная группа	27,8±9,2	20,2±5,3	563,6±125,4**	52,9±10,3*	215,6±57,5	5,9±3,6**	23,9±7,4*

**Примечание:**

Контрольная группа - спленоциты депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации клеток, прекультивированных без кофеина.

Опытная группа - спленоциты депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации клеток, прекультивированных с кофеином.

Результаты представлены в виде ( $M \pm SD$ ); \* -  $p < 0,05$ , \*\* -  $p < 0,01$  между соответствующими показателями в контрольной и опытной группах клеток.

Следовательно, полученные результаты указывают на влияние модулированных *in vitro* кофеином спленоцитов на продукцию цитокинов периферическими иммуннокомпетентными клетками депрессивно-подобных реципиентов.

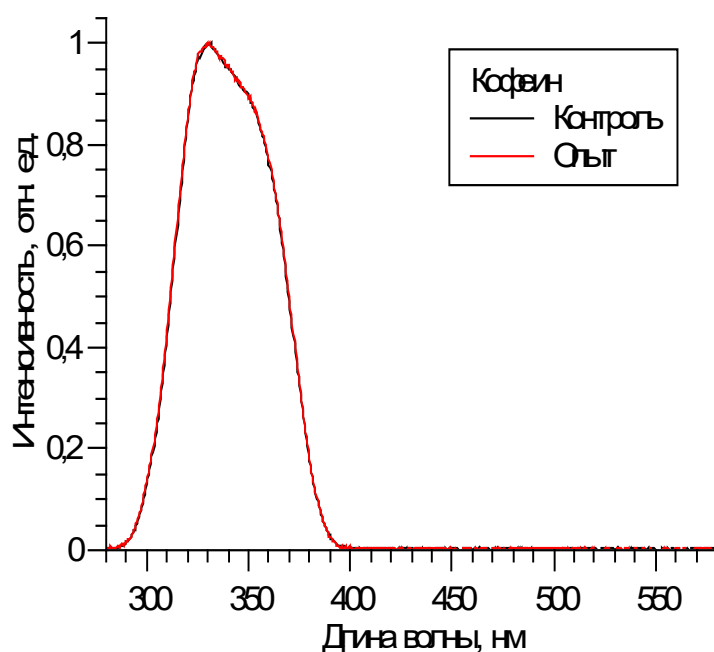
#### 4.4.2.3. Уровень триптофана в спленоцитах

Метаболиты триптофана играют важную роль в патогенезе депрессии. Главный метаболит метоксииндольного пути метаболизма, серотонин, является нейромедиатором и нейромодулятором в ЦНС. В клетках селезенки присутствуют элементы серотониновой системы, фармакологически идентичные таковым в центральных нейронах.

В проведенных исследованиях уровень триптофана в спленоцитах депрессивно-подобных реципиентов (CBA x C57BL/6)F1 и после трансплантации им сингенных клеток селезенки, прекультивированных с кофеином, определялся методом лазерно-индуцированной флюоресценции

(триптофан обладает наиболее сильной флуоресценцией среди всех 20 протеиногенных аминокислот).

Предварительно было произведено сравнение нормированных на максимум спектров флуоресценции образцов суспензии спленоцитов вышеуказанных групп депрессивно-подобных реципиентов при возбуждении лазерным излучением 250 нм. У исследуемых групп сильных различий не обнаружено (Рисунок 23).



Примечание:

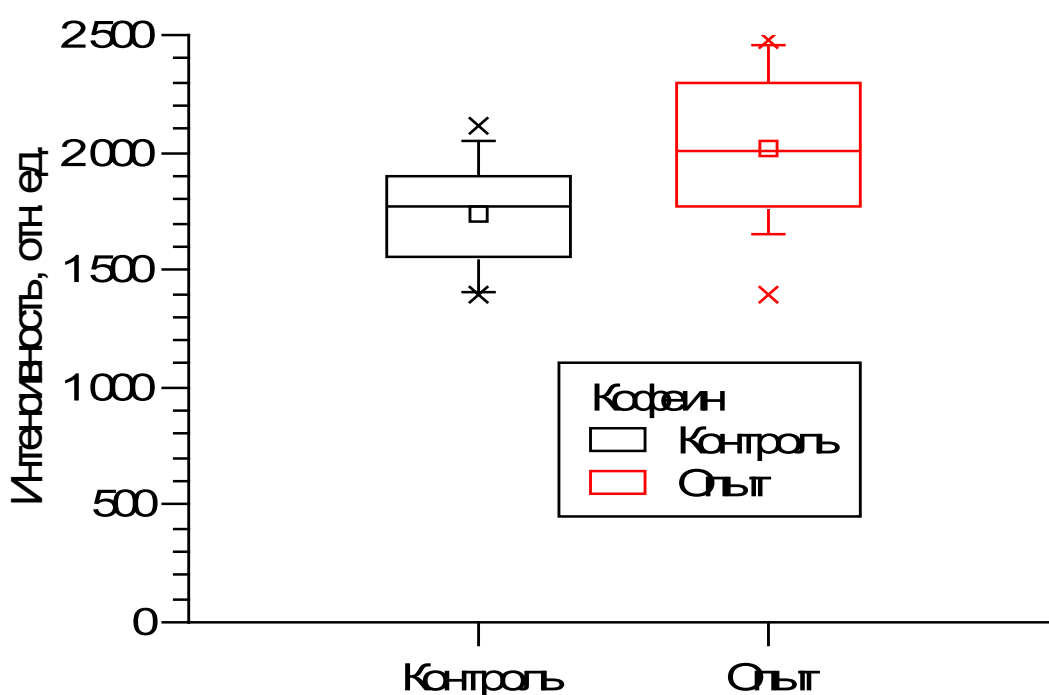
По оси абсцисс - длина волны (нм).

Контроль (черная линия) – суспензия спленоцитов депрессивно-подобных реципиентов, которым была произведена трансплантация спленоцитов, прекультивированных без кофеина.

Опыт (красная линия) - суспензия спленоцитов депрессивно-подобных реципиентов, которым была произведена трансплантация спленоцитов, прекультивированных с кофеином.

Рисунок 23 - Сравнение нормированных на максимум спектров флуоресценции суспензии спленоцитов депрессивно-подобных мышей-реципиентов (CBA x C57BL6)F1 после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* кофеином, для длины волны возбуждающего излучения 250 нм.

В результате проведенных исследований установлено, что в клетках селезенки депрессивно-подобных мышей (CBA x C57BL/6)F1 после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* кофеином, регистрируется более высокий уровень триптофана. Распределение интенсивностей основного пика по группам исследуемых образцов депрессивно-подобных реципиентов (CBA x C57BL/6)F1 после трансплантации сингенных спленоцитов, прекультивированных с кофеином, представлено на рисунке 24.



Примечание:

Контроль - суспензия спленоцитов депрессивно-подобных реципиентов, которым была произведена трансплантация спленоцитов, прекультивированных без кофеина (n= 20).

Опыт - суспензия спленоцитов депрессивно-подобных реципиентов, которым была произведена трансплантация спленоцитов, прекультивированных с кофеином (n= 25).

Рисунок 24 - Коробочная диаграмма максимума интенсивности флуоресценции суспензии клеток селезёнки депрессивно-подобных реципиентов (CBA x C57BL/6)F1 после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* кофеином.

Результаты однофакторного дисперсионного анализа максимальных интенсивностей флуоресценции исследуемых образцов свидетельствуют о более высоком уровне триптофана в суспензии клеток селезенки депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* кофеином, по сравнению с таковым в спленоцитах контрольной группы реципиентов ( $F = 12,39$ ,  $P = 0,001$  для средних значений образцов клеток контрольной и опытной групп).

Следовательно, анализ результатов экспериментальных исследований выявил снижение катаболизма триптофана в клетках селезенки депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации, модулированных кофеином сингенных спленоцитов.

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о том, что в условиях *in vitro* кофеин модулирует функциональную активность спленоцитов депрессивно-подобных самцов (CBA x C57BL/6)F1, вызывая стимуляцию спонтанной и КонА-индуцированной пролиферативной активности указанных клеток, изменение продукции ими ряда цитокинов. Трансплантация прекультивированных с кофеином ИКК сопровождается у сингенных депрессивно-подобных реципиентов стимуляцией гуморального иммунного ответа и спонтанной пролиферативной активности клеток селезенки, снижением в спленоцитах катаболизма триптофана, а также модуляцией продукции этими клетками цитокинов в сторону снижения провоспалительных и повышения противовоспалительных цитокинов.

**4.4.3. Структурно-функциональные показатели нервной системы депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации модулированных *in vitro* кофеином сингенных спленоцитов**

#### 4.4.3.1. Морфологическая характеристика ядер гиппокампа

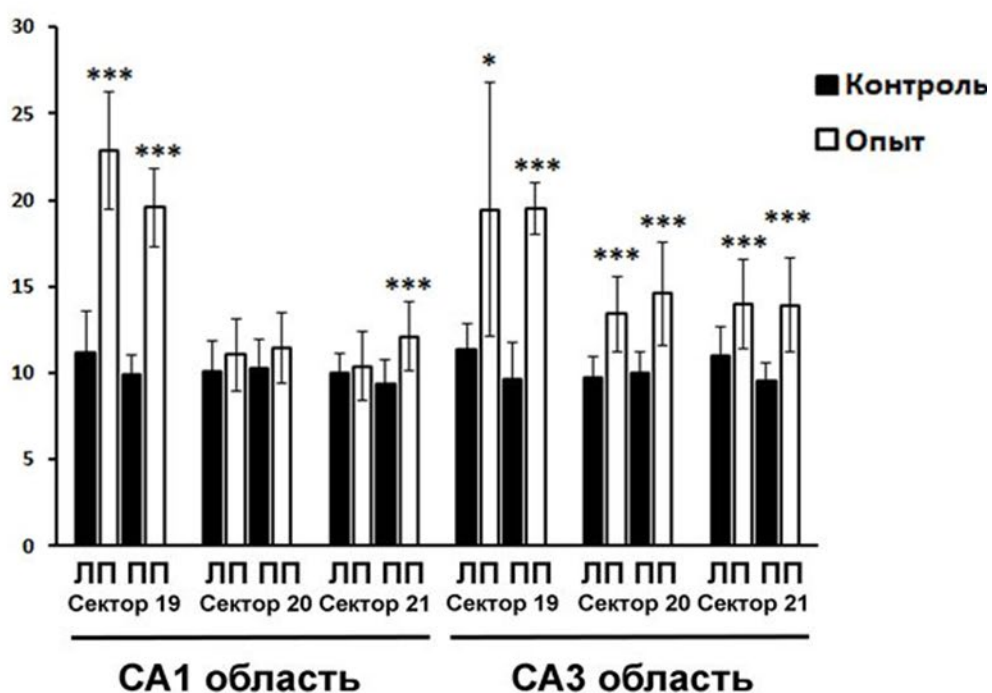
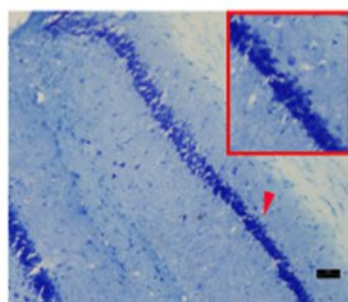
Представления о патогенетических механизмах стрессовых реакций включают сведения об активации вслед за стресс-реализующими стресс-лимитирующих систем организма, минимизирующих повреждающее действие стресса; в числе последних рассматриваются нейроны гиппокампа. Гиппокамп играет ограничительную роль в процессах снижения ответа ГГНО при стрессе и уменьшении повреждения [Gulyaeva, 2021; Bolshakov et al., 2021]. При депрессивных расстройствах, вызванных хроническим стрессом, регистрируется достоверное уменьшение объема гиппокампа [Roohi et al., 2021], обусловленное снижением плотности пирамидных нейронов CA1 и CA3 полей [Doolin et al., 2018]. Уменьшение нейрональной площади гиппокампа ведет к более пролонгированному ответу со стороны ГГНО на психологические стрессоры [Должиков, и др., 2017]. Апоптоз нейронов CA1 и CA3 зон гиппокампа считается также одним из патогенетических механизмов когнитивных нарушений при депрессии [Тюренков и др., 2015; Doolin et al., 2018]. В исследованиях на моделях индуцированного воздействием хронического стресса депрессивно-подобного состояния показаны аналогичные изменения в структуре гиппокампа, касающиеся редукции нейрональной пластичности, в том числе снижении нейрогенеза и экспрессии белков, ассоциированных с нейронной пластичностью [Provençal et al., 2020]. Хроническое воздействие стресса приводит к уменьшению общей длины и спрутинга дендритов [Giotakos, 2020], экспрессии PSA- NCAM-молекул [Tzanoulinou, 2020] и синаптических SNARE - белков [Zurawski et al., 2019] в гиппокампе. При этом, рядом исследователей было установлено, что нейродегенеративные процессы при депрессивных расстройствах являются частично обратимыми под влиянием успешной терапии препаратами, проявляющими нейротрофические и нейропротективные свойства, причем эффективность указанной терапии зависит от степени восстановления

гиппокампального нейрогенеза [Magaraggia et al., 2021]. Восстановление ткани мозга и его функций связывают с реорганизацией и формированием новых синапсов, удлинением дендритов и аксонов и с нейрогенезом посредством образования новых нейронов из стволовых клеток, которые в настоящее время обнаружены даже у взрослых людей, в частности, в зубчатой извилине гиппокампа [Trifu et al., 2020].

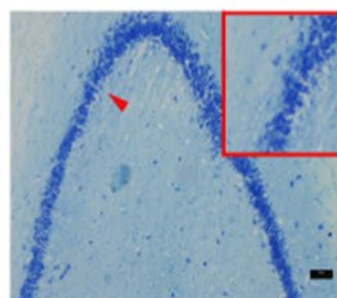
В связи с вышеизложенным, в проведенном исследовании была проанализирована гистологическая картина ядер гиппокампа у депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации ИКК, с модулированной *in vitro* кофеином функциональной активностью, способных, как было представлено в предыдущих параграфах настоящего раздела, купировать ряд когнитивных и иммунологических симптомов депрессивно- подобного состояния у животных.

В результате проведенных исследований получены приоритетные данные, свидетельствующие о том, что после трансплантации прекультивированных с кофеином сингенных спленоцитов у самцов в депрессивно-подобном состоянии, индуцированном хроническим социальным стрессом, существенно увеличивается плотность пирамидных нейронов в полях CA1, CA3 гиппокампа (рисунок 25).

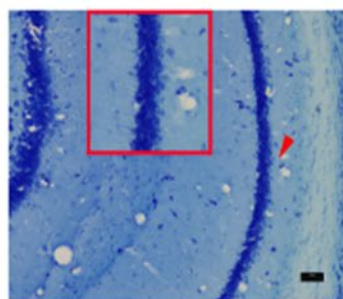
Нейронная плотность, %

**A****CA1 область****CA3 область****Б**

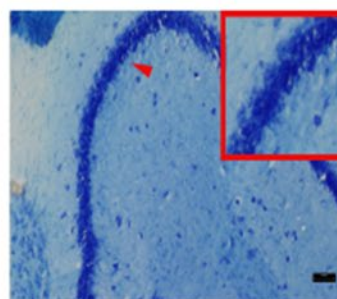
Контроль



Контроль



Опыт



Опыт

Примечание:

Цифровое обозначение секторов полей CA1, CA3 гиппокампа соответствует уровням срезов относительно брегмы, согласно гистологическому атласу мозга мыши (по Paxinos G., Franklin K.B.J. Paxinos and Franklin's the mouse brain in stereotaxic coordinates, 2013).

А: Темные столбики - контрольная группа депрессивно-подобных реципиентов, которым была произведена трансплантация спленоцитов, прекультивированных без кофеина.

Светлые столбики - опытная группа депрессивно-подобных реципиентов, которым была произведена трансплантация спленоцитов, прекультивированных с кофеином;  $n=10-18$  в каждой группе; \* -  $p < 0,05$  между показателями в контрольном и опытном образцах; \*\*\* -  $p < 0,001$  между показателями в контрольном и опытном образцах.

Б: микрофотографии коронарных срезов гиппокампа, окрашенные по Нисслю. Увеличение -  $100\times$ , шкала – 50  $\mu\text{m}$ .

Рисунок 25 - Плотность пирамидных нейронов (%) полей CA1, CA3 гиппокампа в правом и левом полушариях головного мозга депрессивно - подобных реципиентов (CBAx57BL/6) F1 после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* кофеином.

Следовательно, после трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином спленоцитов у депрессивно - подобных реципиентов (CBAx57BL/6) F1 выявлено увеличение нейрональной площади в CA1, CA3 полях гиппокампа, что свидетельствует о стимуляции нейрогенеза в указанных зонах.

#### 4.4.3.2. Уровень BDNF и цитокинов в отдельных структурах головного мозга

Доказано, что деструктивные процессы, отмечающиеся на фоне аффективных расстройств, являются частично обратимыми после терапии нейротрофическими и нейропротективными препаратами; при этом BDNF является одним из кандидатов на роль биомаркера ответа на терапию антидепрессантами [Платонкина и др., 2018; Левчук и др., 2018, 2022]. Это связано с тем, что: во-первых, этот нейротрофический фактор синтезируется как клетками мозга, так и клетками других органов; во-вторых, множественные исследования показывают снижение уровня BDNF

при формировании депрессии и повышение - при лечении; и, в-третьих, уровень BDNF прямо коррелирует со степенью улучшения состояния пациентов с БДР, оцененного с помощью шкалы Гамильтона (Hamilton Depression Rating Scale). Длительная терапия антидепрессантами повышает экспрессию BDNF в гиппокампальных и корковых нейронах и может предотвращать стресс-индуцированное снижение экспрессии BDNF [Платонкина и др., 2018; Левчук и др., 2018]. Учитывая роль BDNF и его рецепторов в процессах нейропластичности и то, что депрессия и антидепрессанты оказывают противоположные действия на BDNF, очевидно, что BDNF-сигнализация играет одну из ведущих ролей в патофизиологии депрессии и в механизме действия антидепрессантов.

Вышеизложенное послужило основанием для исследования содержания BDNF в патогенетически значимых для депрессивного состояния структурах головного мозга у депрессивно-подобных реципиентов (CBA x C57Bl/6)F1 после трансплантации ИКК с модулированной кофеином функциональной активностью. Наиболее выраженная экспрессия BDNF показана в гиппокампе и префронтальной коре [Попова и др., 2017; Duman et al., 2021], где и было определено его количественное содержание.

В результате проведенных исследований установлено, что продемонстрированная выше стимуляция гиппокампального нейрогенеза после трансплантации модулированных *in vitro* кофеином спленоцитов у сингенных депрессивно-подобных реципиентов регистрировалась на фоне повышения в гиппокампе уровня BDNF (Таблица 7).

Таблица 7 - Содержание BDNF (пг/мг ткани) в структурах головного мозга депрессивно-подобных реципиентов (CBA x C57Bl/6)F1 после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* кофеином.

Структура мозга	Контроль	Опыт
Префронтальная кора	121,2± 72,3	267, 5± 65,8*
Гиппокамп	347,5 ± 97,8	587,9 ± 96,7*

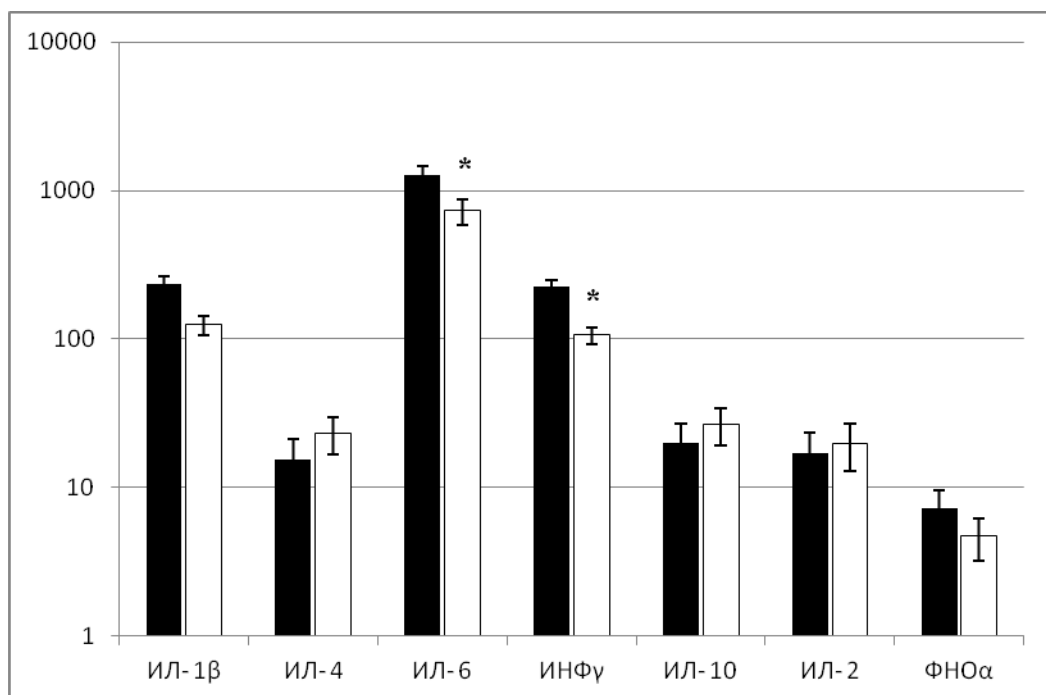
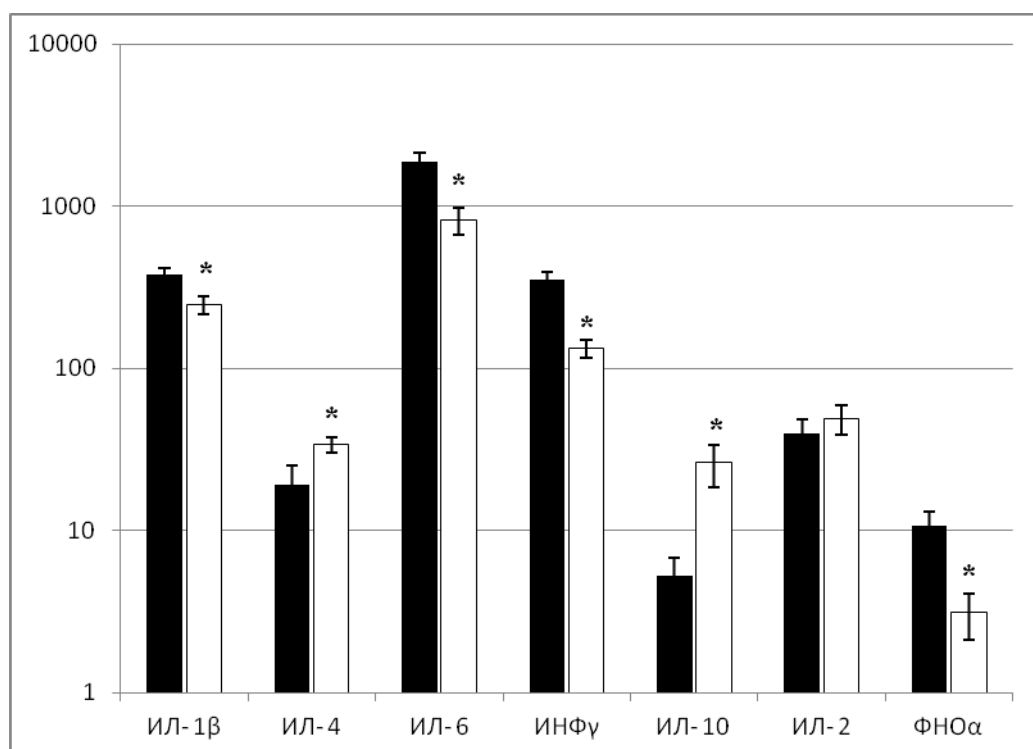
**Примечание:**

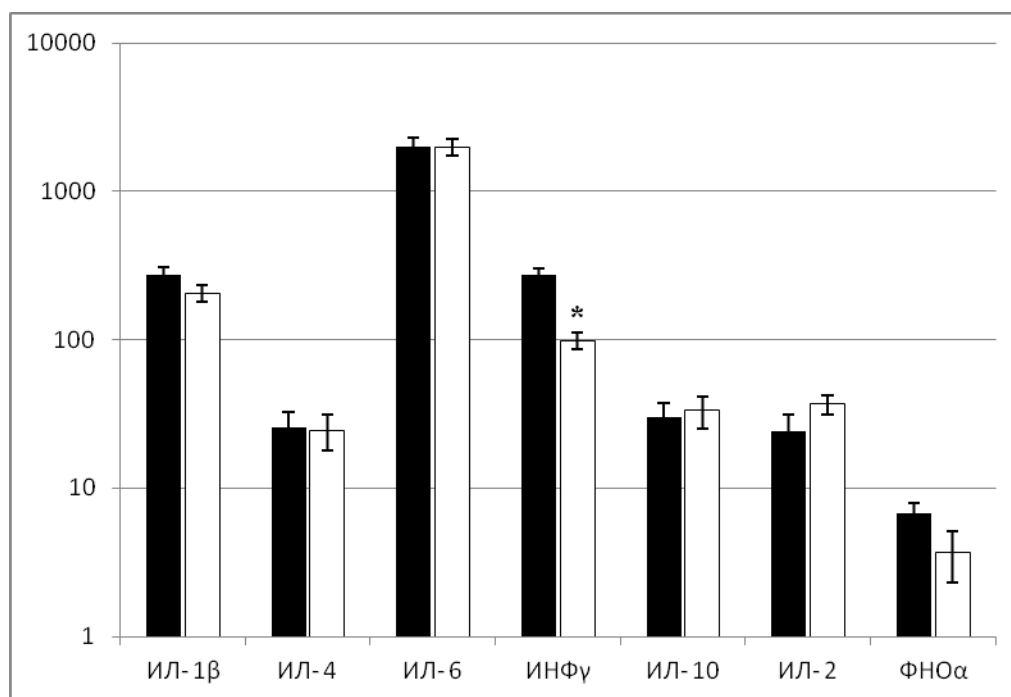
Контроль - образцы лизатов соответствующей структуры головного мозга депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации прекультивированных без кофеина спленоцитов.

Опыт - образцы лизатов соответствующей структуры головного мозга депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации прекультивированных с кофеином спленоцитов; n=10 в каждой группе; \* -  $p < 0,05$  между соответствующими показателями в контрольном и опытном образцах.

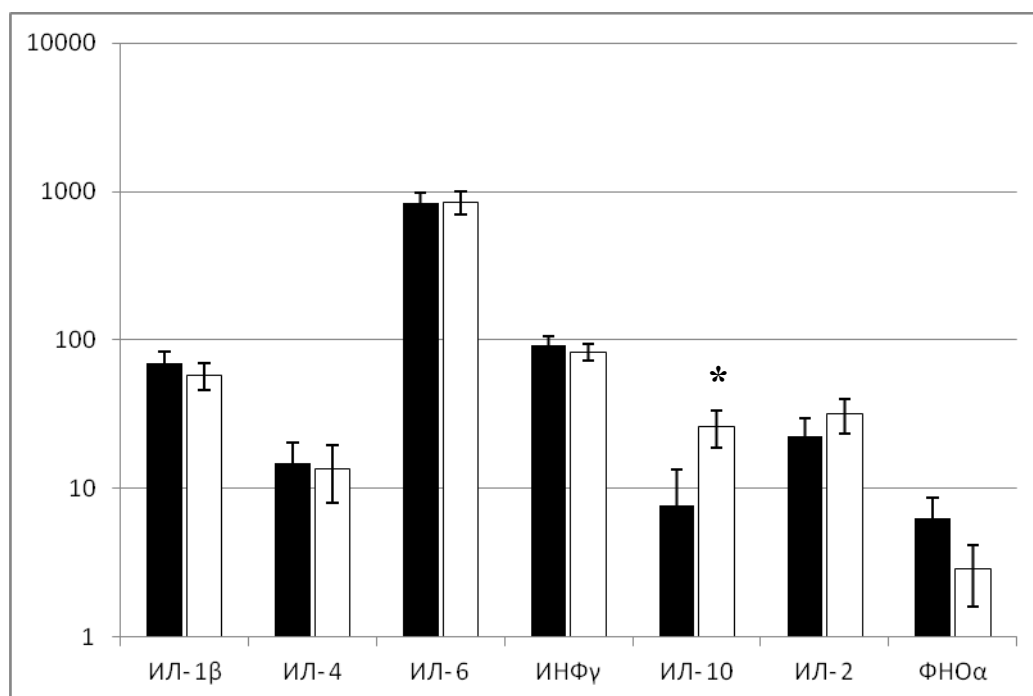
Как видно из представленной таблицы 7, после трансплантации модулированных кофеином спленоцитов наблюдалось также повышение уровня указанного нейротрофического фактора в префронтальной коре депрессивно-подобных реципиентов, что свидетельствует о стимуляции процессов нейропластичности в патогенетически значимых для состояния депрессивности структурах головного мозга, и может быть одним из механизмов показанного выше (раздел 4.4.1.) редактирования поведенческого фенотипа указанной группы реципиентов.

Учитывая патогенетическую роль нейровоспаления, в структурах головного мозга реципиентов было исследовано также содержание цитокинов, выступающих в роли биомаркеров депрессии. Полученные результаты свидетельствуют о том, что у депрессивно-подобных реципиентов (CBAx57BL/6)F1 после трансплантации сингенных спленоцитов, модулированных *ex vivo* кофеином, изменялось количественное содержание ряда регуляторных цитокинов в патогенетически значимых для указанного состояния структурах головного мозга: в гипоталамусе выявлено снижение ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$ ; в гиппокампе – снижение ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$  при повышении ИЛ-4 и ИЛ-10; в префронтальной коре - снижение ИНФ- $\gamma$ , повышение ИЛ-10 в стриатуме (Рисунок 26).

**А****Б**



**В**



**Г**

Примечание:

А- гипоталамус; Б – гиппокамп; В - префронтальная кора; Г- стриатум.  
Темные столбики - контрольная группа - образцы супернатантов лизатов соответствующей структуры головного мозга депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации спленоцитов, прекультивированных без кофеина.

Светлые столбики - опытная группа - образцы супернатантов лизатов соответствующей структуры головного мозга депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации спленоцитов, прекультивированных с кофеином; \* -  $p < 0,05$ ; \* \* -  $p < 0,01$  по сравнению с соответствующим контролем

Рисунок 26 - Содержание цитокинов (пг/мг ткани) в патогенетически значимых для состояния депрессивности структурах головного мозга у депрессивно-подобных реципиентов (CBA x C57Bl/6)F1 после трансплантации спленоцитов, прекультивированных с кофеином.

Следовательно, в настоящем исследовании установлено, что после трансплантации ИКК с измененным *in vitro* кофеином функциональным фенотипом у сингенных депрессивно-подобных реципиентов в патогенетически значимых структурах мозга регистрируется стимуляция процессов нейропластичности на фоне модуляции содержания цитокинов в сторону снижения провоспалительных (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$ ) и повышения противовоспалительных цитокинов ИЛ-10 и ИЛ-4, что свидетельствует о снижении нейровоспаления.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что ИКК депрессивно-подобных мышей, обработанные *ex vivo* кофеином, изменяют свои функциональные свойства и после внутривенного введения сингенным депрессивно-подобным реципиентам оказывают значительное позитивное психо- и нейроиммунотулирующее влияние, которое проявляется: в редактировании поведенческого фенотипа; стимуляции процессов нейропластичности на фоне снижения нейровоспаления; в модуляции функциональной активности иммунной системы (стимуляция антителообразования в селезенке *in vivo*, повышения пролиферативной активности спленоцитов, снижение продукции провоспалительных ИЛ-1 $\beta$ , цитокинов ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$  и повышение

продукции ИЛ-2, ИЛ-4 и ИЛ-10 спленocyтaми *in vitro*); снижении катаболизма триптофана в селезенке.

## Глава 5. Обсуждение результатов

Экспериментальное моделирование депрессии - один из основных подходов для изучения патогенетических механизмов заболевания и поиска новых эффективных подходов к его терапии. Использование в работе для моделирования депрессии фактора длительного социального стресса, вызванного многократным опытом поражений, позволяло индуцировать у мышей-самцов тревожно-депрессивное состояние, сходное по этиологии, симптоматике, нейрохимическим изменениям в ГМ, чувствительности к антидепрессантам с аналогичной патологией у людей и наиболее тяжело поддающееся коррекции [Кудрявцева и др., 2017; Dantzer, 2018].

Имеется достаточный массив данных о существенной роли нарушения нейроиммунного взаимодействия и функциональной активности ИКК в патогенезе депрессии. Однонаправленное влияние большинства психоактивных препаратов на клетки ЦНС и иммунной системы позволяет рассматривать модулированные экстракорпорально психоактивным препаратом ИКК в качестве модельных объектов для воздействия на нарушенную при депрессивных состояниях нейроиммунную функциональную взаимосвязь. В лаборатории нейроиммунологии НИИФКИ впервые была показана способность ИКК с определенным функциональным фенотипом после адоптивного переноса направленно изменять функции ЦНС, включая поведенческие реакции, равно как и модулировать функциональную активность иммунной системы сингенных реципиентов [Маркова 2010, 2011, 2012]. Данный эффект ИКК

впоследствии был также продемонстрирован другими исследователями на различных экспериментальных моделях [Rattazzi et al., 2013; Clark et al., 2018]; при этом показано, что введенные ИКК способны модулировать когнитивные функции путем непосредственного контакта с клетками ГМ [Song, 2016]. Это послужило основанием исследования возможности ИКК с направленно измененной вне организма функциональной активностью путем обработки психоактивным препаратом с хорошо известным психостимулирующим эффектом влиять на поведенческий фенотип, функциональную активность иммунной и нервной систем у сингенных депрессивно-подобных реципиентов.

Селезенка является важным иммунным эффекторным органом, так как участвует в реализации врожденных и адаптивных иммунных реакций через клиренс патогенов, продукцию цитокинов и дифференцировку клеток, модулирует про- и противовоспалительные реакции. Вне зависимости от вида АГ и способа его введения формирование иммунного ответа начинается в маргинальной зоне белой пульпы селезенки [Павленко, Саяпина 2017]. В отличие от лимфатических узлов, в селезенке отсутствуют афферентные лимфатические сосуды, поэтому все клетки и антигены попадают в селезенку через кровоток. Распознавание инфекции или повреждения в селезенке активирует множество рецепторов PRR. TLR (также относятся к PRR и распознают PAMP). Ряд цитозольных NLR распознает как микробные продукты, так и DAMP молекулы, связанные с повреждением, например, внеклеточный АТФ, белки теплового шока, мочевая кислота и др. Которые, множественно определяются при состояниях депрессивности. Опыт повторных социальных поражений влияет на изменение клеточного состава селезенки. Такое изменение через биологически обратную связь оказывает выраженное влияние на поведение [Gurfein et al., 2017; de Sousa Fernandes MS et al., 2022]. Учитывая участие селезенки и ее клеточных элементов в связи между ЦНС

и периферической иммунной системой, для экспериментального воздействия на состояние депрессивности были выбраны спленциты.

Выраженные иммуномодулирующие свойства кофеина, в том числе рецептор-опосредованная модуляция функциональной активности различных типов ИКК, включая спленциты [Szałach, Lisowska, 2019; Açıkalın, 2021], определили использование этого психоактивного препарата в собственных исследованиях для модуляции *ex vivo* нарушенной при депрессивно-подобном состоянии функциональной активности ИКК.

В процессе проведенных исследований установлено, что кофеин в условиях *in vitro* стимулирует сниженную у депрессивно-подобных мышей спонтанную и митоген-индуцированную пролиферативную активность спленцитов; модулирует продукцию указанными клетками цитокинов: повышает спонтанную продукцию ИЛ-2, спонтанную и митоген-стимулированную продукцию ИЛ-10 со снижением спонтанной продукции ФНО- $\alpha$ , спонтанной и митоген-стимулированной продукции ИЛ-1 $\beta$  и ИНФ- $\gamma$ . Механизм модулирующего влияния кофеина на вышеуказанные функции ИКК связан, по всей видимости, с прямым рецептор-опосредованным действием кофеина на аденозиновые рецепторы A1AR, A2AR, представленные на макрофагах, В- и Т-лимфоцитах в составе спленцитов [Chavez-Valdez et al., 2016; Reef et al., 2018; Rodak et al., 2021]. Кофеин влияет на модуляцию сигнальных путей Akt/AMPK/mTOR. mTOR является одной из мишеней передачи сигналов TLR4, и является переключателем активации воспалительных процессов NLRP3 путем ингибирования активности каспазы-1 и подавляет активацию NF- $\kappa$ B сигнального пути, таким образом, уменьшая синтез провоспалительных цитокинов [Kovács, et al., 2021; Montenegro et al., 2022]. В частности, кофеин ингибирует активацию транскрипции ИЛ-1 $\beta$  [Zhao, et al., 2019], что согласуется с полученными собственными данными о снижении продукции ИЛ-1 $\beta$  спленцитами после инкубации *in vitro* с

кофеином. Показано также снижение продукции указанными клетками ФНО- $\alpha$ . Известно, что кофеин является негативным регулятором секреции ФНО- $\alpha$  в различных клетках, включая спленоциты [Chavez-Valdez et al., 2016; Bellinger et al., 2018] в результате воздействия кофеина внутриклеточная концентрация цАМФ увеличивается, а экспрессия гена ФНО- $\alpha$  снижается, при этом эффект кофеина на высвобождение ФНО- $\alpha$  может быть опосредован влиянием через A1R на сигнальный путь цАМФ/РКА [Wang et al., 2022], что, по- всей видимости, и имело место в результате прекультивирования спленоцитов депрессивно-подобных мышей с кофеином. При этом известно, что кофеин может оказывать как противовоспалительное, так и провоспалительное действие, в зависимости от используемой дозы [Al Reef et al., 2018]. Низкая (50 мкМ, соответствует 10мкг/мл в сыворотке) и средняя концентрации кофеина действуют на A1AR, A2AR [Chavez-Valdez et al., 2016]. В проведенных исследованиях прекультивирование спленоцитов депрессивно-подобных мышей (CBAxС57BL/6)F1 с кофеином в используемой низкой оптимальной концентрации направляет клеточный ответ не только в сторону снижения провоспалительных цитокинов, как указано выше, но и в сторону синтеза противовоспалительных цитокинов, в частности ИЛ-10, что согласуется с представленными литературными данными [Paiva et al., 2019]. Следовательно, кофеин, в используемой в собственном исследовании оптимальной (низкой) концентрации в условиях *in vitro* оказывает позитивный, модулирующий функциональную активность ИКК депрессивно-подобных мышей (CBAxС57BL/6)F1 эффект. Подобный позитивный иммуномодулирующий эффект также характерен для ряда антидепрессантов, что зарегистрировано как на культурах клеток пациентов с БДР, так и на клетках экспериментальных животных при моделировании депрессивно-подобного состояния [Qiu et al., 2017; Chen et al., 2017].

В настоящей работе был исследован функциональный фенотип нервной и иммунной систем депрессивно-подобных реципиентов (CBAx57BL/6)F1 после внутривенного введения модулированных *in vitro* кофеином спленоцитов сингенных депрессивно-подобных доноров.

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) [Zhang, 2014; Bekhbat et al., 2022] и главным признаком депрессивно-подобного состояния у животных [Dudek et al., 2021; Su, et al., 2022]. В работе впервые показано, что после трансплантации модулированных кофеином спленоцитов редактируется поведенческий фенотип сингенных депрессивно-подобных (CBAx57BL/6)F1 реципиентов, что проявляется в, частности, в снижении ангедонии. Показан также выраженный позитивный эффект трансплантированных ИКК на депрессивно-подобное поведение реципиентов, оцененное в тесте Порсолта: регистрировалось полное исчезновение временных периодов полной неподвижности в воде, снижение периодов пассивного плавания при резком увеличении периодов мобильности, преимущественно за счет повышения высокой мобильности. У депрессивно-подобных реципиентов регистрировалась выраженная стимуляция моторного и исследовательского компонентов ОИП, представляющего собой один из важнейших типов поведения, который обеспечивает индивидуума знанием об окружающей среде и является существенным психологическим механизмом адаптации высших позвоночных.

Известно, что формирование депрессивно-подобного поведения у экспериментальных животных сопровождается модуляцией функциональной активности иммунной системы, в частности, в изменении продукции ИКК цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10, ИЛ-18, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$ , TGF- $\beta$ 1 [Köhler et al., 2017; Idova et al., 2018; Ferentinos

et al., 2021; Kofod et al., 2022]. Ряд доклинических и клинических исследований также показывают, что повышение уровней ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  в сыворотке периферической крови обуславливает системное воспаление, связанное с ангедонией [Milenkovic et al., 2019; Mehta et al., 2020].

При оценке продукции цитокинов спленocyтaми депрессивно-подобных реципиентов (CBAxС57BL/6)F1 после трансплантации модулированных *in vitro* кофеином донорских ИКК установлено снижение спонтанной продукции клетками селезенки ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$  и стимулированной митогенами продукции ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$ ; снижение продукции указанных провоспалительных цитокинов свидетельствует о снижении системного воспаления. ИЛ-6, является цитокином, необходимым для дифференцировки клеток Th17, которые в свою очередь, способствуют возникновению/поддержанию депрессии [Beurel et al., 2022]. При этом зарегистрировано повышение спонтанной продукции спленocyтaми ИЛ-2, ИЛ-4, а также спонтанной и стимулированной продукции ИЛ-10, что согласуется с имеющимися в литературе данными об эффекте ИЛ-10, направленного на подавление синтеза провоспалительных цитокинов, посредством подавления активности NF- $\kappa$ B [Paiva et al., 2019; Roohi, et al., 2021]. Повышение продукции ИЛ-2 (обеспечивает активацию клональной пролиферации и дифференциации подмножеств Т-лимфоцитов, имеет критическую роль в развитии и функционировании Treg клеток), а также снижение ИНФ- $\gamma$  (за счет устранения его ингибирующего действия на продукцию ИЛ-4 клетками Th0) косвенно способствует развитию клеток Th2, необходимого для дифференцировки клеток Th2 [Bellinger et al., 2018; Jahangard et al., 2020]. Подобная иммуномодуляция сопровождает терапевтический эффект ряда антидепрессантов. Так, некоторые антидепрессанты, включая СИОЗС, снижают уровень провоспалительных цитокинов (например, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ ) и/или повышают уровень противовоспалительных (например, ИЛ-4, ИЛ-10), ИЛ-2 [Himmerich et al., 2010; Lee et al., 2020].

Противовоспалительные препараты, также обладают быстрыми и мощными иммуномодулирующими свойствами. По результатам метаанализов противовоспалительные препараты оказывают антидепрессивную активность, как самостоятельно, так и усиливая эффекты антидепрессантов, нацеленных на моноамины [Perez-Caballero et al., 2019]. Известно, что провоспалительные цитокины, продуцируемые ИКК влияют на центральный и периферический уровень моноаминов. Главный метаболит метоксииндольного пути метаболизма триптофана, серотонин, является нейромедиатором и нейромодулятором в ЦНС. По клиническим данным пациентов с БДР показана взаимосвязь проявления когнитивных симптомов при повышенных ИЛ-6 и ФНО- $\alpha$  и одновременным снижением концентрации 5-НТ в плазме периферической крови [Rengasamy et al., 2022]. Так, снижение уровня серотонина приводит к когнитивной и аффективной дисфункциям. Гипофункция серотонинергической системы является характерным клиническим признаком БДР [Gao et al., 2021]. Среди механизмов, участвующих в патогенезе депрессии, отмечается дисбаланс кинуренинового пути (КП) метаболизма триптофана. Незаменимая аминокислота триптофан является общим предшественником для биосинтеза нейротрансмиттера серотонина и метаболитов кинуренина [Tanaka et al., 2020]. Известно, что при БДР и депрессивно-подобном состоянии снижается концентрация и биодоступность триптофана, уровень КИНК в плазме крови, а также увеличивается соотношения кинуренин/КИНК [Messaoud et al., 2021].

В ИКК присутствуют элементы серотониновой системы, фармакологически схожие с таковыми в центральных нейронах [Серебряная и др., 2018]. Так, Т-лимфоциты несут 5-гидрокситриптаминовые (5-НТ) рецепторы (5-НТ1А и 5-НТ2А/2С); макрофаги экспрессируют 5-НТ систему обратного захвата, идентичную системе обратного захвата серотонина тромбоцитами [Vojvodic et al., 2019]. В ИКК также идет распад триптофана по кинурениновому пути с участием фермента ИДО.

Экспрессия фермента повышается вследствие психологического стресса цитокинопосредованным механизмом, в котором задействованы провоспалительные цитокины (ИНФ- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6), и ингибируется противовоспалительным ИЛ-4 [Петрова, Майорова, 2018]. В частности, ИЛ-6 способен индуцировать ИДО, используя сигнальный путь транскрипционного фактора STAT3 [Серебряная и др., 2018]. При воспалении, которое наблюдается при БДР, повышение катаболизма триптофана приводит к тому, что дополнительное количество периферического кинуренина становится доступным для его метаболизма в мозге. Триптофан, кинуренин и гидрокскинуренин могут проникать через ГЭБ. 60-80% кинуренина в ГМ имеют экзогенное происхождение в физиологических условиях, активно транспортируются в ГМ с помощью переносчика нейтральных аминокислот. Эти цифры могут приближаться к 100% после системной иммунной активации [Savitz, 2020]. Следовательно, содержание кинуренина в мозге при депрессии увеличивается за счет кинуренина, синтезируемого в мозге, и дополнительного кинуренина из источников на периферии [Campociaro et al., 2019].

При оценке уровня триптофана в спленоцитах депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации модулированных *in vitro* кофеином сингенных спленоцитов впервые показано повышение уровня триптофана в спленоцитах, свидетельствующее о снижении его катаболизма. Это позволяет предполагать изменение метаболизма указанной незаменимой аминокислоты в качестве одного из возможных механизмов влияния модулированных *in vitro* кофеином ИКК на когнитивные функции и иммунные процессы депрессивно-подобных реципиентов. Известно, что состояние депрессивности сопровождается изменением функциональной активности иммунной системы, это проявляется в уменьшении количества наивных клеток и В-клеток памяти; регуляторных В-клеток; плазматических клеток [Masopust, et al., 2019; Lynall et al., 2021], а также супрессией иммунного ответа, наблюдаемой у

пациентов с БДР и при моделировании депрессивно-подобного состояния [Ahmetpahic et al., 2018; Lynall et al., 2021].

Имеются данные о роли триптофана, его метаболитов и ИДО в модулировании активности В-лимфоцитов [Dagenais-Lussier et al., 2021]; на мышинной модели с дефицитом триптофана показано ингибирование развития В-клеток в костном мозге, снижение количества периферических В-клеток [van Beek et al., 2016]. В частности, ИДО-1 экспрессируется в различных типах тканей, включая, лимфатические узлы, селезенку и другие [Sittig et al., 2021]. Повышение продукции ИНФ- $\gamma$  значительно увеличивает экспрессию ИДО-1.

У депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации модулированных *in vitro* кофеином спленоцитов депрессивно-подобных сингенных доноров показаны стимуляция пролиферативной активности лимфоцитов и гуморального иммунного ответа. При депрессии истощение триптофана, опосредованное ИДО-1, активирует путь киназы GCN2, чувствительной к аминокислотам, что подавляет пролиферацию лимфоцитов и приводит к изменению уровня цитокинов, таких как ИЛ-6 [Merlo et al., 2022]. Изложенное связывает показанные в работе снижение катаболизма триптофана, продукции провоспалительных цитокинов клетками селезенки и повышение пролиферативной активности спленоцитов у депрессивно-подобных реципиентов. В представленной работе показано, что у депрессивно-подобных реципиентов (СВА х С57BL/6)F1 после трансплантации модулированных *in vitro* кофеином сингенных спленоцитов регистрировалась стимуляция гуморального иммунного ответа, выражающаяся в увеличении относительного и абсолютного количества АОК селезенки, что может быть одним из эффектов показанной усиленной продукции спленоцитами реципиентов ИЛ-4 и ИЛ-10, которые выступают синергистами, и ИЛ-2 (ростовой фактор Т и В лимфоцитов), усиливая пролиферацию В-лимфоцитов, защищая их от апоптоза и повышая синтез IgM и IgA [Reich et al., 2001; Asadullah et al.,

2003; Леднева и др., 2011]. Принимая во внимание тот факт, что стимуляция гуморального иммунного ответа ассоциирована с положительным эффектом ряда препаратов, используемых для лечения БДР [Szczyrka et al., 2020], аналогичный эффект у депрессивно-подобных реципиентов модулированных кофеином ИКК, в совокупности со стимуляцией пролиферативной активности лимфоцитов, снижением катаболизма триптофана в спленоцитах и продукции этими клетками провоспалительных цитокинов (что указывает на снижение периферического воспаления), можно расценивать в качестве позитивного иммуномодулирующего эффекта введенных ИКК.

Известно, что увеличение продукции периферических цитокинов ИКК ассоциировано с нейровоспалением при депрессивных состояниях [Idova et al., 2018]. При этом, характерная для депрессивно-подобного состояния повышенная продукция клетками ГМ провоспалительных цитокинов, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$  и ИФН- $\gamma$  [Dudek et al., 2021], обуславливающая нейровоспаление и нейродегенерацию [Song et al., 2018; Bauer et al., 2021], опосредует также и паттерны депрессивно-подобного поведения [Idova et al., 2018]. Активированные воспалительные и метаболические внутриклеточные сигнальные пути приводят к высвобождению цитокинов, влияющих на передачу сигналов ДА, 5-НТ и НА в ГМ [Milenkovic et al., 2019; Ting et al., 2020], уровень нейротрофинов и прочих биологически активных соединений, вызывая симптомы, связанные с дефицитом мотивации и психомоторными расстройствами, а также двигательным замедлением [Lucido et al., 2021; Thylur, Goldsmith, 2022]. Следовательно, периферические цитокины, продуцируемые клетками иммунной системы, проникая через ГЭБ, оказывают модулирующее влияние на цитокиновую сеть мозга, а затем, посредством влияния на нейроэндокринные функции, нейротрансмиттерные системы и нейрональную активность вовлекаются в патофизиологические механизмы депрессии (рисунок 27).

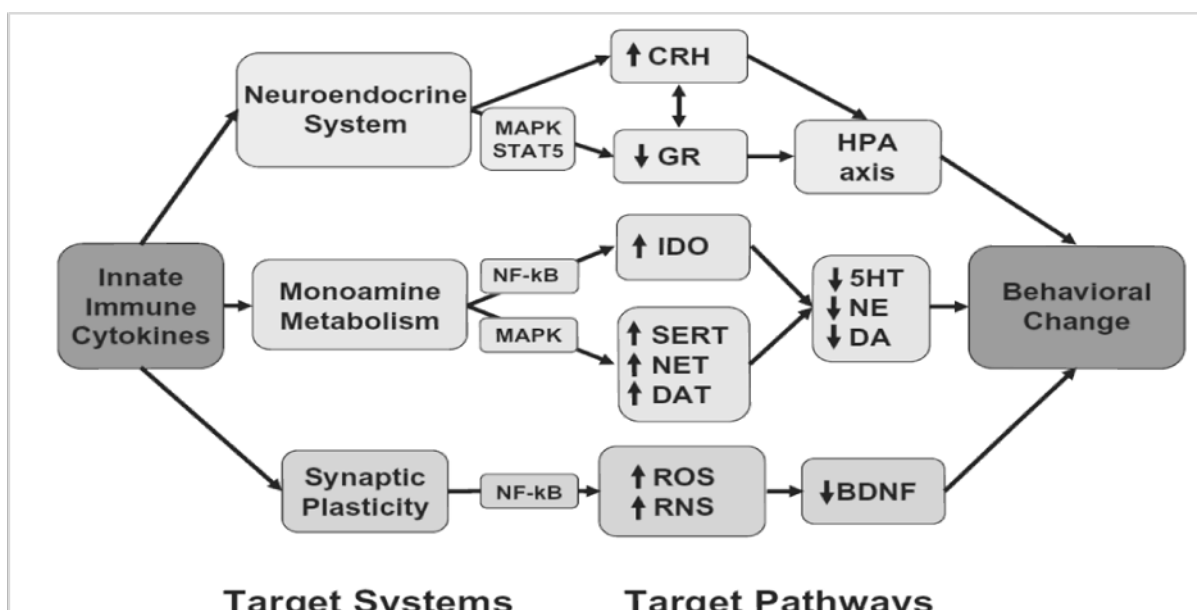


Рисунок 27 - Механизмы патогенеза депрессии (по Maes, 2016)

Вышеизложенное послужило мотивом оценки структурно-функциональных показателей нервной системы депрессивно-подобных реципиентов (CBAx57BL/6)F1 после трансплантации спленоцитов, с модулированной *in vitro* кофеином функциональной активностью.

При депрессии патогенетически значимыми структурами ГМ являются гиппокамп, миндалевидное тело, префронтальная кора, стриатум и гипоталамус [Галкин, и др., 2020; Amidfar, et al., 2021; Silva, et al., 2021]. Гиппокамп является ключевой анатомической областью мозга, связанной с депрессией. Изменения нейропластичности в области гиппокампа (объем гиппокампа, нейрогенез, количество синапсов, синаптическая пластичность и пластичность глиальных клеток) наблюдались как у пациентов с клинической депрессией, так и при моделировании депрессии у грызунов [Xu et al., 2020; Lin, Herselman, et al., 2022]. Уменьшение объема гиппокампа является наиболее часто воспроизводимым наблюдением при визуализации ГМ, связанным с БДР [Bronshiteyn et al., 2021]. При депрессии изменения нейропластичности в гиппокампе обнаруживаются в его субрегиональных зонах, преимущественно в Cornu Ammonis (CA1-CA3). В частности, показано значительное уменьшение

объема гиппокампа за счет апоптоза пирамидных нейронов в областях СА1 и СА3 гиппокампа [Roddy et al., 2019; Xu et al., 2020]. Снижение нейрональной площади гиппокампа рассматривается в качестве одного из патогенетических механизмов депрессии [Cameron et al., 2018; Xu et al., 2020]; создавая условия для нарушения целостности гиппокампальной сети, ослабляя рестриктивные эффекты гиппокампа, что, в свою очередь, приводит к пролонгированному ответу ГГНО на психологические стрессоры [Xu et al., 2020; Remes et al., 2021]. Апоптоз нейронов указанных зон считается также одним из механизмов когнитивных нарушений при депрессии [Тюренков, и др., 2015].

В процессе выполнения диссертационного исследования были получены приоритетные данные, показывающие, что плотность нейронов в СА1 и СА3 областях гиппокампа была значительно увеличена у депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации сингенных спленоцитов, прекультивированных с кофеином (Способ стимуляции нейрогенеза в гиппокампе. Патент RU № 2675111). Предположительно, этот эффект был обусловлен потенциальным влиянием спленоцитов на нейрогенез и/или выживаемость зрелых и новообразованных нейронов. Весь цикл нейрогенеза, включая функциональную интеграцию новых нейронов в сеть гиппокампа, занимает не менее 35-45 дней [Ho et al., 2014]. Поскольку увеличение плотности нейронов в вышеуказанных областях гиппокампа наблюдалось гораздо раньше (через 48 ч после трансплантации модулированных кофеином спленоцитов), выявленный эффект, вероятно, обусловлен стимулирующим влиянием введенных ИКК на поздние стадии нейрогенеза и/или выживание зрелых и новообразованных нейронов.

Имеются данные о том, что нейродегенеративные процессы, возникающие при депрессивных расстройствах, частично обратимы на фоне терапии препаратами, обладающими нейротрофическими и нейропротекторными свойствами. Восстановление мозговой ткани и ее

функций связывают с реорганизацией и расположением новых синапсов, удлинением дендритов и аксонов, а также с нейрогенезом за счет образования новых нейронов из стволовых клеток-предшественников, которые обнаруживаются даже у взрослых млекопитающих, в субвентрикулярной зоне боковых желудочков и в зубчатой извилине гиппокампа [Xu et al., 2020; Tikhonova et al., 2021]. Существенную роль в развитии, дифференцировке, синаптогенезе и выживании нейронов ГМ, а также в процессах их адаптации к внешним воздействиям играют нейротрофические факторы [Xu et al., 2020; Remes et al., 2021; Tikhonova et al., 2021]. BDNF (как транскрипты мРНК, так и белок) является наиболее широко представленным в ГМ нейротрофическим фактором. BDNF проявляет свои нейротрофические эффекты, связываясь с TrkB-рецептором. Образовавшийся рецепторный комплекс BDNF/TrkB активирует несколько сигнальных путей, включая PI3K-Akt и MAPK-ERK и mTORC1, запуская, таким образом, процессы синтеза белков, вовлеченных в рост, дифференцировку и пролиферацию нейронов, а также образование новых синаптических связей [Gao et al., 2021; Михалицкая, Левчук, 2022]. Считается, что нарушения в генетической и эпигенетической регуляции метаболизма, транспорта или передачи сигнала BDNF способствуют развитию ряда неврологических и психических заболеваний, включая тревогу и тяжелые депрессивные расстройства [Xu et al., 2020]. У грызунов с моделированным хроническим стрессом депрессивно-подобным состоянием снижается экспрессия BDNF в гиппокампе, префронтальной коре и миндалине - областях, связанных с эмоциональным восприятием [Kim et al., 2020; Calabrese et al., 2021]. Снижение уровня BDNF связано с ангедонией посредством изменения в вентральных экстрапирамидных цепях, регулирующих мотивацию к поиску вознаграждения и избеганию стресса [Levchuk et al., 2020]. Известно, что уровень BDNF повышается при приеме антидепрессантов, таких как СИОЗС, СИОЗСН, ТЦА и др., а также применении ЭСТ,

кетаминa, ТМС [Rosson et al., 2022]. Исследователями было показано, что однократной инфузии BDNF в гиппокамп или префронтальную кору достаточно, чтобы вызвать антидепрессивный ответ [Deyama et al., 2019; Duman et al., 2021]. По литературным данным, показана связь между BDNF и 5-НТ при БДР, при этом 5-НТ является основным нейротрансмиттером, регулирующим функцию BDNF в гиппокампе [Gao et al., 2021; Duman et al., 2021].

В собственном исследовании установлено, что вышеуказанные структурные изменения гиппокампа у сингенных депрессивно-подобных реципиентов сопровождалось повышением уровня BDNF, которое было зарегистрировано также в префронтальной коре, что, учитывая вышеприведенные данные, может быть одним из механизмов как стимуляции нейрогенеза в гиппокампе [Scotton et al., 2020; Levchuk et al., 2020], так и редактирования депрессивно-подобного поведенческого фенотипа реципиентов после трансплантации, модулированных кофеином ИКК.

Важное место в патогенезе депрессии, в том числе в развитии депрессивно-подобного поведения, как указывалось выше, принадлежит провоспалительным цитокинам. Многочисленные исследования, в том числе результаты метаанализов, выявили повышенные уровни периферических и центральных провоспалительных цитокинов и белков острой фазы при депрессии [Idova et al., 2018; Remes et al., 2021]. DAMP<sub>s</sub> и активация инфламмасомы могут служить первичными событиями, способствующими развитию нейровоспаления у пациентов с БДР [Bekhbat et al., 2022]. Активация инфламмасом NLRP1, NLRP3 опосредует высвобождение ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-18 [Huang, Xu, 2021]. По механизму обратной связи активированные клетки глии могут продуцировать цитокины. Воспаление при БДР опосредует рекрутизацию периферических иммунных клеток [Fox, Lobo, 2019]. Более того, нейродегенеративные изменения в ГМ и, в частности, в гиппокампе, при депрессии также связаны с

нейровоспалением, которое влияет на дифференцировку нейронов и ремоделирование дендритов [Liu et al., 2020; Wu et al., 2021]. С учетом вышеизложенного было проанализировано количественное содержание ряда цитокинов, выступающих в роли биомаркеров депрессии [Horita et al., 2020; Dudek et al., 2021], в гиппокампе и других патогенетически значимых структурах ГМ депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации модулированных кофеином ИКК. При этом в гипоталамусе установлено снижение содержания ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$ ; в гиппокампе ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$  и повышение ИЛ-10; в префронтальной коре- снижение ИНФ- $\gamma$ , что явно указывает на снижение нейровоспаления у депрессивно- подобных реципиентов.

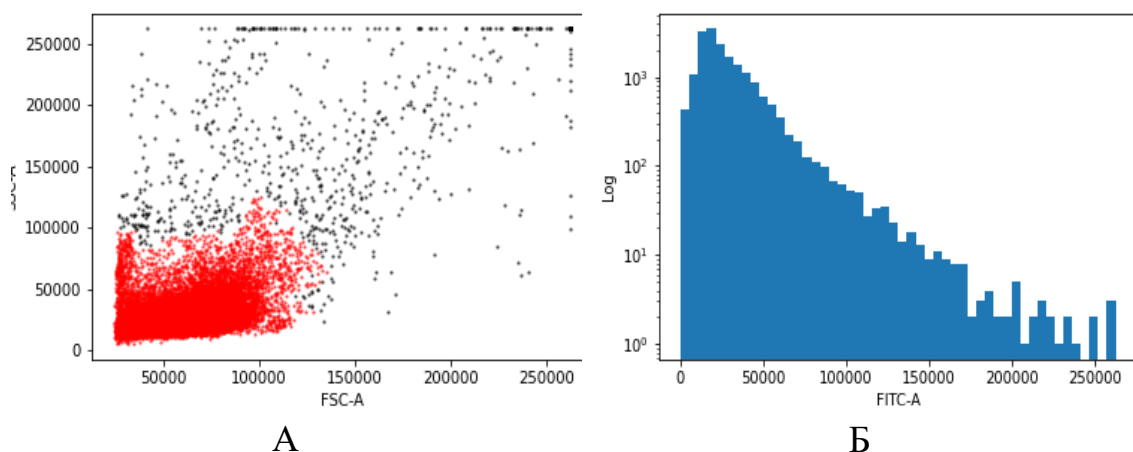
В соответствии с «цитокиновой гипотезой депрессии» повышению уровня провоспалительных цитокинов отводится существенная роль в патогенезе заболевания. Вклад противовоспалительных цитокинов также был проанализирован в ряде исследований. В частности, показано, что модуляция ИЛ-10 влияет на ряд симптомов, связанных с депрессией, а именно, беспомощность, нарушения сна, восприятие боли: введение ИЛ-10 может модулировать эти симптомы. Модуляция ИЛ-10 депрессивно- подобного поведения осуществляется через регуляцию ГГНО. ИЛ-10 способен дозозависимо подавлять АКТГ-индуцированную продукцию стероидов клетками надпочечников. Этот эффект, по-видимому, проявляется за счет подавления ферментов, отвечающих за биосинтез кортикостерона [Asadullah et al., 2003] с последующей стимуляцией гуморального иммунного ответа, что согласуется с собственными результатами; при этом ИЛ-10 ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов (посредством подавления активности NF- $\kappa$ B) и активность ферментов, участвующих в продукции медиаторов воспаления и свободных кислородных радикалов при БДР, что свидетельствует о предполагаемом антидепрессивном эффекте указанного противовоспалительного цитокина [Tang et al., 2021; Roohi, et al., 2021;

Zhang et al., 2022]. Следовательно, ИЛ-10 выступает связующим звеном между изменениями гормональной и цитокиновой среды в патогенезе депрессии. ИЛ-10 способен также ингибировать морфологические изменения, связанные с активацией глии. Эффект ИЛ-10 в ЦНС может быть опосредован его ролью в регуляции выживания глиальных клеток и нейронов, влияя на синаптическую пластичность преимущественно в гиппокампе [Tang et al., 2021]. Что согласуется с собственными результатами об ассоциации стимуляции нейрогенеза и повышения уровня ИЛ-10 в гиппокампе депрессивно-подобных реципиентов после трансплантации модулированных кофеином ИКК. Принимая во внимание не вызывающий в научном мире сомнений факт того, что гиппокампальный нейрогенез, снижение BDNF и нейровоспаление могут служить мишенями для терапии депрессии [Remes et al., 2021; Eliwa et al., 2021; Duman et al., 2021]. ИКК с модулированной *ex vivo* кофеином функциональной активностью можно рассматривать в качестве потенциального терапевтического агента с выраженным антидепрессантным эффектом, который проявляется в вышеуказанных позитивных изменениях в ЦНС и иммунной системе.

Учитывая вышеприведенные литературные данные и результаты собственных исследований, можно предположить возможные механизмы, посредством которых реализуется редактирование депрессивно-подобного фенотипа реципиентов (CBAx C57BL/6)F1 модулированными *ex vivo* кофеином ИКК селезенки. В качестве основных факторов, приводящих к изменениям функциональных параметров ЦНС, в том числе и депрессивно-подобного поведенческого фенотипа, после трансплантации указанных ИКК, могут выступать продуцируемые ими цитокины, способные проникать в ГМ и модулировать функциональное состояние его клеток. При этом они воздействуют на астроциты, контактирующие с капиллярами, усиливая продукцию ПГЕ2 и КРФ, которые, в свою очередь, модулируют функциональную активность других клеток ЦНС, в том числе

синтез собственных цитокинов, ростовых и нейротрофических факторов, включая BDNF, что в совокупности выражается в снижении нейровоспаления и активации репаративных процессов в ГМ, преимущественно наблюдаемых в гиппокампе [Eliwa et al., 2021; Remes et al., 2021; Duman et al., 2021]. Среди структур ГМ- мишеней для большинства цитокинов являются также нейросекреторные ядра гипоталамуса, стриатум и миндалина, изменение активности которых, приводят к модуляции нейромедиаторных систем ГМ, равно как и редактированию депрессивно- подобного поведенческого фенотипа [Wu et al., 2021; Cihankaya et al., 2022; Avgustinovich et al., 2022]. Модуляция нейрохимической установки ГМ и активности ГГНО, опосредованная цитокинами, изменяют также функциональную активность иммунной системы, в частности, интенсивность гуморального иммунного ответ, пролиферативный ответ ИКК и продукцию ими цитокинов [Кудрявцева и др., 2017; Kudryavtseva, 2020; Xu et al., 2020; Remes et al., 2021].

Принимая во внимание хорошо известный эффект хоуминга, указанные изменения функциональной активности иммунной системы и ее клеточных элементов после трансплантации, модулированных кофеином спленоцитов, также могут быть результатом прямого контакта введенных клеток с клетками селезенки реципиента. Подтверждением чему служат результаты собственных исследований, свидетельствующие о регистрации трансплантированных спленоцитов, прекультивированных с кофеином, в паренхиме селезенки депрессивно-подобных реципиентов (рисунок 28).



Примечание:

Цитограмма А не гейтирована (ungated): выделение популяции лимфоцитов (выделено красным) по параметрам бокового (SS) и прямого (FS) светорассеяния.

Гистограмма Б (гейтированная): показатель CFSE, гейтированный по области лимфоцитов цитограммы А, для выявления относительного содержания меченных CFSE лимфоцитов от общего числа лимфоцитов.

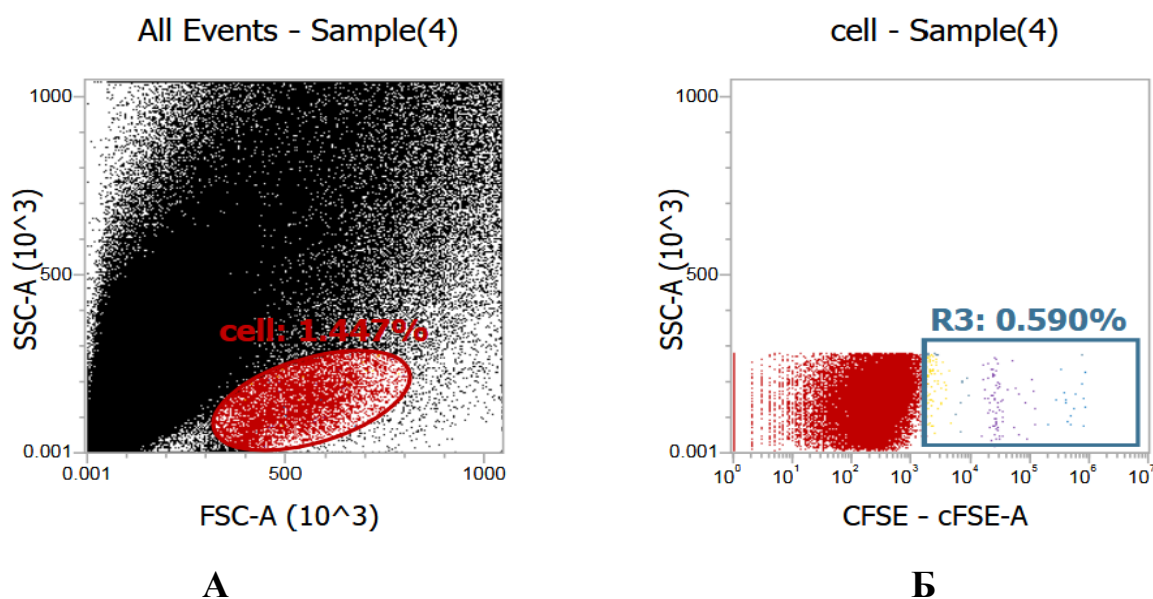
Рисунок 28 - Прекультивированные с кофеином, меченные CFSE спленоциты депрессивно- подобных доноров в паренхиме селезенки сингенных депрессивно- подобных реципиентов (CBA x C57BL/6)F1.

В строме и паренхиме лимфоидных органов, в том числе в селезенке, широко распространены афферентные нервные окончания [Bellinger et al., 2018; Nu et al., 2020], образующие с ИКК синапсы, в связи с чем, ИКК селезенки и продуцируемые ими цитокины, в свою очередь, могут изменять функциональную активность ЦНС через активацию чувствительных волокон блуждающего нерва, посредством которых цитокиновые сигналы передаются в ПВЯ гипоталамуса, модулируя функциональную активность их клеток.

Принимая во внимание двусторонний характер нейроиммунных взаимодействий, зарегистрированные в представленной работе изменения параметров функциональной активности иммунной системы сингенных депрессивно-подобных реципиентов (CBAxС57BL/6)F1 после трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином ИКК могут быть

следствием как непосредственного воздействия трансплантируемых клеток и продуцируемых ими цитокинов, так и опосредованного влияния ЦНС.

Имеются также данные о том, что не только цитокины, но и ИКК могут проникать в ГМ и изменять функциональное состояние ЦНС, включая редактирование поведения, путем непосредственного контакта с клетками ЦНС [Clark et al., 2018; Mecha et al., 2020]. Обусловленная нейровоспалением повышенная проницаемость ГЭБ при депрессивно-подобном состоянии предполагает и этот механизм реализации выявленных центральных эффектов трансплантированных ИКК. Подтверждением чему служит визуализация функционально активных спленоцитов, модулированных *ex vivo* кофеином, в ткани ГМ депрессивно-подобных реципиентов (рисунок 29).



Примечание:  
 А- диаграмма фронтального-бокового рассеяния, [cell] – область лимфоцитарного облака.  
 Б - диаграмма бокового рассеяния против CFSE, гейтирована по области [cell] цитогаммы А, предназначена для выявления относительного содержания меченных CFSE лимфоцитов от общего числа лимфоцитов. Фракция лимфоцитов была обогащена на трехступенчатом градиенте перколлы.

Рисунок 29 – Цитогамма лимфоцитарной фракции клеток головного мозга депрессивно-подобных реципиентов (CBA x C57BL/6)F1 после

внутривенного введения меченных CFSE сингенных спленоцитов, модулированных *in vitro* кофеином.

Таким образом, анализ данных литературы в совокупности с результатами собственных исследований, позволяет рассматривать существование сложного комплекса достаточно независимых механизмов реализации, выявленных в работе психонейроиммунотулирующих эффектов ИКК с измененной *ex vivo* кофеином функциональной активностью у сингенных депрессивно-подобных реципиентов (Рисунок 30).



#### Поведенческий фенотип

- снижение ангедонии
- стимуляция двигательной активности в тесте Порсолта
- стимуляция моторного и исследовательского компонентов ориентировочно- исследовательского поведения

#### Структурно- функциональные показатели нервной системы

- стимуляция процессов нейропластичности:
  - стимуляция нейрогенеза в гиппокампе;
  - повышение уровня BDNF в гиппокампе и префронтальной коре
- модуляция содержания цитокинов в головном мозге (снижение нейровоспаления)

#### Функциональная активность иммунной системы

- стимуляция антителообразования при системном иммунном ответе
- стимуляция пролиферативной активности ИКК
- модуляция продукции цитокинов ИКК (снижение провоспалительной активности)
- снижение катаболизма триптофана в спленоцитах

Рисунок 30 - Психонейроиммунотулирующее влияние иммунных клеток, с измененной *ex vivo* кофеином функциональной активностью, у депрессивно-подобных животных.

## Заключение

БДР имеет высокую распространенность и коморбидность, занимает одно из ведущих мест по потере трудоспособности среди социально значимых заболеваний человека. Современные представления медико-биологических наук относительно патогенеза БДР позволяют рассматривать его как патологию дизрегуляции основных гомеостатических систем организма нервной, иммунной, эндокринной, что и легло в основу наиболее актуальной на сегодняшний день «нейроиммунной гипотезы депрессии», предполагающей в качестве основных патогенетических механизмов заболевания дисбаланс нейромедиаторных систем; торможение механизма восстановления нейронов; повышение эндогенных нейротоксинов; нейродегенеративные изменения, преимущественно наблюдаемые в гиппокампе, вовлечение в патогенетические механизмы симпатической нервной системы и ГГНО, модулирующих функциональную активность иммунной системы и ее клеточных элементов [Leonard, 2018; Herman et al., 2019; Limanaqi, 2020]. Иммунные нарушения при тревожно-депрессивных расстройствах у человека и при их моделировании у животных можно охарактеризовать как угнетение Т-клеточных функций и активация клеток врожденного иммунитета. В модели стресс-индуцированного депрессивно-подобного состояния показано, что хронический стресс оказывает провоспалительный эффект - повышает уровень провоспалительных цитокинов в крови; усиливает мобилизацию моноцитов из костного мозга в циркуляцию и их миграцию в селезенку, легкие и головной мозг; индуцирует резистентность миелоидных клеток к глюкокортикоидам; усиливает экспрессию адгезивных молекул на эндотелиальных клетках.

При этом способность провоспалительных моноцитов мигрировать в периваскулярные пространства и ткань ГМ и через продукцию провоспалительных цитокинов активировать микроглию раскрывает иммунно-опосредованные механизмы влияния периферических ИКК на функции ЦНС, включая формирование депрессивно-подобного поведенческого фенотипа. Основными цитокинами, вовлеченными в патогенез депрессии, которые могут служить биомаркерами оценки эффективности антидепрессантной терапии по результатам мета-анализов являются ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-12, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$ . Показана также патогенетическая роль ИЛ -2, ИЛ -8, ИЛ -10, ИЛ -13, ИЛ -18. При этом депрессия представляется как хронический воспалительный процесс. Провоспалительные цитокины, продуцируемые периферическими ИКК, проникая через ГЭБ, влияют на продукцию цитокинов в ГМ, изменяют нейрохимическую установку мозга, снижают нейротрофический фактор мозга (BDNF) и посредством связывания с TrkB рецепторами неблагоприятно влияют на нейрогенез и нейропластичность; они могут также воздействовать на систему глутамата путем активации ИДО, которая катаболизирует триптофан в кинуренин, с последующим образованием нейроактивных метаболитов, которые, путем рецептор-опосредованного воздействия снижают нейротрансмиссию и повышают эксайтотоксичность; способны инициировать активацию резидентных иммунных клеток ГМ, которые, в свою очередь, могут модулировать активность нейронов, синаптическую пластичность, уровень глюкокортикоидов и нейромедиаторов, приводящие к нарушениям в когнитивной сфере. Это объясняет связь между депрессией, воспалением, психоэмоциональным стрессом и нейродегенеративными процессами, преимущественно регистрируемыми в гиппокампе. Взаимосвязь патологических изменений в ЦНС и иммунной системе при депрессии, однонаправленное влияние большинства психоактивных препаратов на клетки обеих гомеостатических систем, позволяет рассматривать

модулированные *ex vivo* психоактивным веществом ИКК в качестве модельных объектов для воздействия на нарушенную при депрессивных состояниях нейроиммунную функциональную взаимосвязь с целью ее коррекции. Выраженные психо- и иммуномодулирующие свойства кофеина сделали его препаратом выбора для направленной рецептор-опосредованной модуляции функционального фенотипа ИКК депрессивно-подобных мышей с последующей оценкой возможности использования этих клеток для редактирования депрессивно-подобного фенотипа.

В результате проведенных в этом направлении исследований установлено, что модулированные *ex vivo* кофеином ИКК после трансплантации депрессивно-подобным сингенным реципиентам оказывают выраженное позитивное психонейроиммуномодулирующее влияние, которое проявляется в редактировании поведенческого фенотипа (снижении ангедонии, купировании депрессивно-подобного поведения, стимуляции ОИП); модуляции функциональной активности ЦНС (стимуляции процессов нейропластичности на фоне изменения содержания ряда цитокинов в патогенетически значимых для депрессивно-подобного состояния структурах головного мозга (гиппокампе, гипоталамусе, префронтальной коре, стриатуме) свидетельствующих о снижении нейровоспаления); равно как и в модуляции функционального фенотипа иммунной системы (стимуляции гуморального иммунного ответа, пролиферативной активности спленоцитов, изменении продукции этими клетками ряда патогенетически значимых для состояния депрессивности цитокинов: снижении провоспалительных ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО- $\alpha$ , ИНФ- $\gamma$  и повышении ИЛ-2, противовоспалительных ИЛ-10, ИЛ-4, и, как следствие, снижение катаболизма триптофана в клетках селезенки).

Таким образом, модулированные *ex vivo* кофеином ИКК депрессивно-подобных доноров способны редактировать депрессивно-подобный фенотип сингенных реципиентов, воздействуя на основные патогенетические механизмы депрессии. Проблема поиска новых

эффективных методов для лечения депрессии, преодоления полной или частичной фармакорезистентности, а также снижения побочного действия применяемых лекарственных препаратов до сих пор остается открытой и очень актуальной, учитывая большое количество пациентов с БДР во всем мире. Полученные результаты могут служить экспериментальным обоснованием разработки новых технологий иммунотерапии депрессивных расстройств аутологичными ИКК с экстракорпорально модулированной функциональной активностью.

## Выводы

1. Спленоциты депрессивно-подобных самцов (СВАхС57BL6)F1 после обработки *in vitro* кофеином характеризуются повышенной спонтанной и индуцированной пролиферативной активностью, изменением продукции ряда цитокинов: повышением спонтанной продукции ИЛ-2, спонтанной и митоген-стимулированной продукции ИЛ-10 со снижением спонтанной продукции ФНО- $\alpha$ , спонтанной и митоген-стимулированной продукции ИЛ-1 $\beta$  и ИНФ- $\gamma$ , что свидетельствует о модуляции кофеином в условиях *ex vivo* функциональной активности иммунокомпетентных клеток селезенки мышей в депрессивно-подобном состоянии.
2. После трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином спленоцитов у сингенных депрессивно-подобных реципиентов (СВАхС57BL/6)F1 установлено усиление антителобразования в селезенке при системном иммунном ответе и повышение пролиферативной активности спленоцитов, что свидетельствует об иммуностимулирующем эффекте введенных клеток.
3. После трансплантации прекультивированных с кофеином спленоцитов у сингенных реципиентов (СВАхС57BL/6)F1 в депрессивно-подобном состоянии показана модуляция продукции клетками селезенки ряда цитокинов: снижение спонтанной продукции ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$ ; стимулированной митогенами продукции ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$  при повышении спонтанной продукции ИЛ-2, ИЛ-4, а также спонтанной и стимулированной продукции ИЛ-10, что указывает на влияние введенных клеток на продукцию цитокинов.
4. После трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином спленоцитов, у сингенных депрессивно-подобных реципиентов (СВАхС57BL/6)F1 выявлено снижение уровня провоспалительных цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6,

ИНФ- $\gamma$  в гипоталамусе, ИНФ- $\gamma$  в префронтальной коре, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИНФ- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$  в гиппокампе при повышении уровня противовоспалительных цитокинов ИЛ-4, ИЛ-10 в гиппокампе и ИЛ-10 в стриатуме, что указывает на снижение нейровоспаления.

5. После трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином спленоцитов у сингенных депрессивно-подобных реципиентов (CBAxС57BL/6)F1 показаны повышение плотности пирамидных нейронов в СА1 и СА3 полях гиппокампа, повышение уровня BDNF в гиппокампе и префронтальной коре, что свидетельствует о стимуляции процессов нейропластичности в патогенетически значимых для состояния депрессивности структурах головного мозга.

6. После трансплантации модулированных *ex vivo* кофеином спленоцитов у сингенных депрессивно-подобных реципиентов (CBAxС57BL/6)F1 установлено снижение ангедонии, выраженное увеличение временных периодов мобильности при снижении периодов пассивного плавания с исчезновением периодов полной неподвижности в воде в тесте Порсолта, выраженная стимуляция моторного и исследовательского компонентов ориентировочно-исследовательского поведения, что свидетельствует о коррекции депрессивно-подобного поведения реципиентов.

7. Иммунокомпетентные клетки селезенки депрессивно-подобных мышей (CBAxС57BL/6)F1, модулированные *ex vivo* кофеином и введенные сингенным реципиентам в депрессивно-подобном состоянии путем воздействия на патогенетические механизмы депрессии оказывают выраженный позитивный психонейроиммуномодулирующий эффект, обеспечивающий редактирование депрессивно-подобного фенотипа.

### Список сокращений

- АКТГ - адренокортикотропного гормона
- АОК - антителообразующие клетки
- ГАМК - гамма-аминомасляная кислота
- ГГНО - гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось
- ГЗТ - гиперчувствительность замедленного типа
- ГМ – головной мозг
- ГЭБ - гематоэнцефалический барьер
- ИКК - иммунокомпетентные клетки
- ИЛ - интерлейкин
- ИФН - интерферон
- КонаА - конкавалин А
- КРФ - кортикотропин-рилизинг-фактор
- ОИП - ориентировочно-исследовательское поведение
- ФНО - фактор некроза опухоли
- ЦНС - центральная нервная система
- ЭБ - эритроциты барана
- BDNF - нейротрофический фактор мозга (Brain-derived neurotrophic factor)
- CD – кластер дифференцировки (cluster of differentiation)
- GDNF – глиальный нейротрофический фактор (glial cell line-derived neurotrophic factor)
- Ig -иммуноглобулин (Immunoglobulin)
- NK – клетки – естественные киллеры (Natural killer cells)
- TLR - Толл-подобные рецепторы (Toll-like receptors)
- TGF- $\beta$ 1 - Трансформирующий фактор роста бета (transforming growth factor beta)
- T reg - Т-регуляторные клетки

Пг - пикограмм

Мкг - микрограмм

Мкл - микролитр

мМ - миллимоль

### Список литературы

1. Алексеева О. С., Кирик О.В., Гилерович Е. Г., Коржевский Д. Э. Микроглия головного мозга: происхождение, структура и функции //Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2019. – Т.55. – № 4. – С. 231–241.
2. Алфимова М.В., Мельникова Т. С. Эмоциональная реактивность при депрессивных расстройствах (аналитический обзор) // Российский психиатрический журнал. – 2012. – № 2. – С. 30-38.
3. Артемьева О.В., Ганковская Л.В. Воспалительное старение как основа возраст-ассоциированной патологии //Медицинская иммунология. – 2020. – Т. 22. – № 3. – С. 419-432.
4. Беккер Р.А., Быков Ю.В. О роли нейроэндокринных нарушений в патогенезе когнитивной дисфункции при депрессивных состояниях (обзор литературы с комментариями) // Медицинский консилиум. – 2016. - № 4. – С. 57-61.
5. Борозденко Д.А., Хованова С.С., Киселева Н.М., Негребецкий В. В. Моделирование депрессии //Российский медицинский журнал. - 2019. - Т.25. – № 3- С.176-180.
6. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. .Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Москва-1991.- 399 с.
7. Вайдо А.И., Дюжикова Н.А., Ширяева Н.В. и др. Системный контроль молекулярно-клеточных и эпигенетических механизмов долгосрочных последствий стресса //Генетика. - 2009.- Т.45.- N3.- С.342-348.
8. Васенина Е. Е., Депрессия и когнитивные нарушения // Медицинский научно-практический журнал. - 2021- Т.11. – № 17.- С. 147-156.
9. Васильева Е.Ф., Брусов О.С. Клеточно-молекулярные механизмы участия провоспалительных моноцитов в патогенезе психических расстройств. Часть 2 //Психиатрия. -2020.- Т.18. – № 4,- С.81–92.

10. Ветлугина Т.П., Невидимова Т.И., Лобачева О.А., Никитина В. Б. Технология иммунокоррекции при психических расстройствах /Томск: Изд-во Том. Ун-та, 2010. - 172 с.
11. Ветлугина Т.П., Никитина В.Б., Лобачева О.А., Невидимова Т.И., Принципы иммунотерапии при психических расстройствах/ Т.П. Ветлугина, В.Б. Никитина, О.А. Лобачева, Т.И. Невидимова // Специальный выпуск «Дни иммунологии в СПб 2017». - 2017. Т. 19.- С. 265-266.
12. Вертоградова О.П., Целищев О.В. Депрессивные идеи в структуре рекуррентной и биполярной непсихотической депрессии и их терапевтическая динамика // Российский психиатрический журнал. – 2011. –№ 3. – С. 31–37.
13. Воронина Е.В., Лобанова Н.В., Яхин И.Р., Романова Н.А., Серегин Ю.А. Роль фактора некроза опухолей-альфа в иммунопатогенезе заболеваний различной этиологии и его значимость в развитии антицитокиновой терапии моноклональными антителами //Медицинская иммунология. - 2018.-Т. 20, № 6.- С. 797-806.
14. Вялова Н.М., Левчук Л.А. Роль BDNF в формировании депрессивных расстройств //Фундаментальные исследования. – 2014. – № 10(4). – С. 771-775.
15. Галкин С.А., Рощина О. В., Васильева С.Н., Симуткин Г.Г., Иванова С.А., Бохан Н.А. Нейрокогнитивные изменения при депрессивных расстройствах //Социальная и клиническая психиатрия. - 2020. –, Т. 30- № 3.- С.26-30.
16. Гаранина Е.Е., Мартынова Е.В., Иванов К.Я., А.А. Ризванов, С.Ф. Хайбуллина Инфламмосомы: роль в патогенезе заболеваний и терапевтический потенциал //Ученые записки казанского университета. Серия естественные науки. – 2020. – Т. 162 (кн. 1). – С. 80–111.
17. Гарибова Т.Л., Крайнева В.А., Воронина Т.А. Поведенческие экспериментальные модели депрессии //Фармакокинетика и Фармакодинамика. - 2017. – Т.3, - С.14-19.

18. Гомазков, О.А. Ростовые и нейротрофические факторы в регуляции трансформации стволовых клеток и нейрогенеза // Нейрохимия. - 2014. - Т. 24. - С. 101–112.
19. Григорьян Г.А., Гуляева Н.В. Моделирование депрессии на животных: поведение как основа методологии, критериев оценки и классификации //Журн. высш. нерв. деят. 2015. 65 (6): 1–18.
20. Добрынин Б.Д. Гомазков О.А. Нейрогенез как адаптивная функция мозга. М.: ИБМХ. - 2014. – 85 с.
21. Добрынина Л.А., Лагода Д.Ю. Нейрогенез взрослого мозга - потенциальная терапевтическая мишень при дегенеративных заболеваниях головного мозга //Медицина. - 2018. – Т.12.- С.12-20.
22. Должиков А. А., Бобынцев И. И., Белых А. Е., Должикова И. Н. Стресс, кортикостероидные повреждения гиппокампа и нервно-психическая патология //Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". – 2017. – № 2. – С. 98–105.
23. Дубинина Е.Е., Щедрина Л.В., Мазо Г. Э. Основные биохимические аспекты патогенеза депрессии //Успехи физиологических наук. - 2021. – Т. 52. – № 1. – С. 31-48.
24. Ешмоллов С.Н., Ситников И.Г., Мельникова И.М. Цитокины ФНО- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$ , ИЛ-1, ИЛ-4, ИЛ-8 и их роль в иммунном ответе при инфекционном поражении ЦНС у детей // Детские инфекции.- 2018.- Т 17. №1.- С. 17-22.
25. Жалсрай А. Исследование нейропротективных свойств извлечений из лекарственных растений при моделях заболеваний центральной нервной системы //Диссертации на соискание ученой степени доктора биологических наук. Томск – 2019. –312 с.
26. Жуков Д.А. Полвека «выученной беспомощности» //Интегративная физиология. – 2020.-Т. 1. – № 3. – С. 181–186.
27. Коржевский Д.Э., Григорьев И.П., Гусельникова В.В., Колос Е.А., Петрова Е.С., Кирик О.В, Суфиева Д.А., Разенкова В.А., Антипова М.В., Черныш М.В. Иммуногистохимические маркеры для нейробиологии // Медицинский академический журнал. - 2019. - Т. 19. - №4. - С. 7-24.

28. Корнева Е.А., Шанин С.Н., Новикова Н.С., Пугач В.А. Клеточно-молекулярные основы нейроиммунных взаимодействий при стрессе // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. - 2017 – Т.103. – № 3. С.217–229.
29. Кудрявцева Н., Амстиславская Т., Августинович Д., Бакштановская И., Липина Т., Горбач О., Корякина Л. Влияние хронического опыта побед и поражений в социальных конфликтах на состояние серотонинергической системы головного мозга мышей // Журн. высш. нервн. деят. - 1. – 996.- Т. 46. – № 6. – С.1088-1092.
30. Кудрявцева, Н. Н., Шурлыгина, А. В., Галямина, А. Г. (2017) Иммунопатология смешанного тревожно/депрессивного расстройства: экспериментальный подход к коррекции иммунодефицитных состояний (обзор) //Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. - 2017. – Т.67. – № 6. – С. 671–692.
31. Леднева А.В. Стяжкина С.Н. Черненко М.Л. Борисова Т.А. Виноходова Е.М. Ларин В.В. Третьяков Е.В. Цитокилотерапия в клинической практике, 2011.
32. Левчук Л.А., Вялова Н.М., Михалицкая Е.В, Семкина А.А., Иванова С.А. Роль BDNF в патогенезе неврологических и психических расстройств //Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 6.- С.1-10.
33. Мазо Г. Э., Незнанов Н.Г. Депрессивное расстройство / Москва: ГЭОТАР-Медиа, - 2019. - 112 с.
34. Майорова М.А., Петрова Н.Н., Строев Ю.И., Чурилов Л.П., Шенфельд И.И. Взаимосвязь аутоиммунных процессов, эндокринных нарушений и депрессии // Обозрение психиатрии и медицинской психологии. - 2020.- Т.1.- № 1- С. 8-19.
35. Маркова Е.В., Абрамов В. В., Рябичева Т. Г., Козлов В.А. Влияние трансплантации лимфоидных клеток селезенки на функциональную активность иммунной и нервной систем у экспериментальных животных //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 147. - №4. – С. 435-440.

36. Маркова Е.В. Козлов В.А., Возможности клеточной терапии при опиатной зависимости //Мир науки, культуры, образования. – 2013. - №5(42). – С. 410-412.
37. Маркова Е.В., Абрамов В.В., Козлов В.А. Иммунокомпетентные клетки и регуляция поведения у животных // Бюллетень Сибирского отделения РАМН. - 2007.- №2 (124). - С.6-9.
38. Маркова Е.В. Механизмы нейроиммунных взаимодействий в реализации поведенческих реакций /Красноярск: Научно-инновационный центр. – 2012. – 236 с.
39. Маркова Е.В., Козлов В.А. Механизмы регуляции ориентировочно-исследовательского поведения мышей (СВАхС57/Вl/6)F1 иммунокомпетентными клетками //Вестник Уральской медицинской академической науки. - 2010. - № 2-1. - С. 49.
- 40.Маркова Е.В., Обухова Л.А., Колосова Н.Г. Показатели активности клеточного звена иммунного ответа крыс линий вистар и охус и особенности их поведения в тесте "открытого поля" //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2003.- Т. -136. -№ 10. -С. 427-429.
41. Маркова Е.В., Абрамов В.В., Старостина М.В., Козлов В.А. Влияние трансплантации иммунокомпетентных клеток на поведенческие и иммунологические параметры у животных с синдромом хронической морфиновой зависимости // Наркология. – 2006. - № 5 (53). – С. 27-31.
- 42.Маркова, Е.В., Абрамов, В.В., Козлов В.А. Регуляция ориентировочно-исследовательского поведения мышей (СВАхС57/Вl/6)F1 клетками системы мононуклеарных фагоцитов. Клеточные технологии: Теоретические и прикладные аспекты: сб. науч. тр. Под ред. В.А. Козлова, С.В. Сенникова, Е.Р. Черных, А.А. Останина / Новосибирск: Наука, 2009.- 300 с.
- 43.Маркова Е.В., Абрамов В.В., Козлов В. А. Регуляция ориентировочно-исследовательского поведения у животных путем

- трансплантации иммунокомпетентных клеток //Успехи современной биологии. – 2009. –№ 129 (4). – С. 348-354.
- 44.Маркова Е.В. Клеточные механизмы нейроиммунных взаимодействий в реализации ориентировочно-исследовательского поведения: автореф. дис. д-ра мед. наук:14.03.09. / Маркова Евгения Валерьевна. - Новосибирск, 2011. - 39с.
- 45.Маркова Е.В., Княжева М.А., Козлов В.А. Клеточные механизмы нейроиммунных взаимодействий в регуляции ориентировочно-исследовательского поведения // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. - 2013. - № 1(76). - С. 49-52.
- 46.Маркова, Е.В. Иммунокомпетентные клетки и регуляция поведенческих реакций в норме и патологии / Красноярск: Научно-инновационный центр. – 2021. – 184 с.
- 47.Маркова Е.В, Серенко Е.В. Коррекция паттернов агрессивного поведения модулированными *ex vivo* иммунокомпетентными клетками: экспериментальное исследование // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. - 2022. - № 3(116). - С. 5-113.
- 48.Маркова, Е.В., Серенко Е.В. Цитокин-опосредованные механизмы коррекции агрессивного поведения модулированными *in vitro* иммунокомпетентными клетками //Сибирский вестник психиатрии и наркологии. - 2023. - № 1(118). - С. 32-40.
- 49.Михалицкая Е.В., Левчук Л.А. Нейропластичность мозга: мозговой нейротрофический фактор и протеинкиназные сигнальные пути (обзор литературы). Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2022. – № 3 (116). – С. 44-53.
50. Немец В.В., Виноградова Е.П. Стресс и стратегии поведения // Национальный психологический журнал. –2017. – Т.26.- №2. – С. 59–72.
51. Павленко В.И., Саяпина И.Ю. Клетки и органы иммунной системы /Клетки и органы иммунной системы: учебное пособие - Благовещенск, 2017. – 124с.

52. Петрова Н.Н., Майорова М.А. Роль кинуренино-вого пути в развитии и терапии депрессии // Современная терапия психических расстройств. -2018.- Т.4(8). – С.45-57.
53. Платонкина Т.В., Боговин Л.В., Наумов Д. Е., Овсянкин А.И. Генетические исследования депрессивных расстройств: обзор литературы //Бюллетень физиологии и патологии дыхания, 2018. - № 68. - С. 96-106
54. Попова Н. К., Ильчибаева Т. В., Наumenко В.С. Нейротрофические факторы (BDNF, GDNF) и серотонинергическая система мозга //Биохимия. - 2017. - Т. 82 (3). - С. 449 – 459.
55. Раймуев К.В., Ищенко А.М., Малышев М.Е. Провоспалительные и противовоспалительные цитокины в патогенезе остеоартрита // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2018. – Т. 10. – № 3. – С. 19–27.
56. Сердюк О. В., Овчинников А. А., Кутузова Н. А., Дробижев М. Ю., Ретюнский К. Ю. МКБ-10 и клинические особенности депрессий (данные программы Циркадиан I) //Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика. –. 2011. – № 3.
57. Серебряная Н.Б., Шанин С.Н, Фомичева Е.Е., Якуцени П.П. Тромбоциты как активаторы и регуляторы воспалительных и иммунных реакций. Часть 1. Основные характеристики тромбоцитов как воспалительных клеток //Медицинская иммунология, - 2018.- Т. 20. – № 6.- С. 785-796.
58. Симбирцев А.С., Тотолян А. А. Цитокины в лабораторной диагностике //Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. - 2015. Т.2. – С. 82-98.
59. Синякин И.А., Баталова Т.А. Микроглия как ключевой компонент регуляции синаптической активности //Научное обозрение, - 2020.- Т.4.- С. 53-58.
60. Табеева Г.Р. Когнитивные расстройства при депрессии и новые мишени терапии //Эффективная фармакотерапия, - 2018 Т. № 20. – С. 28–37

61. Тюренок И.Н., Шмидт М. В, Экова М. Р., Медников Д. С., Бородин Д. Д. Влияние комбинированного стресса на морфологические изменения и экспрессию по-синтаз в вентральном отделе гиппокампа крыс //Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2015. -№7. - С. 110-114.
62. Ушакова В. М., Горлова А. В., Зубков Е. А., Морозова А. Ю., Зоркина Я. А., Павлов Д. А., Иноземцев А. Н., Чехонин В. П. Экспериментальные модели депрессивного состояния //Журнал высшей нервной деятельности, - 2019. – Т.69. – № 2. – С. 230–247.
63. Фалина Л.И., Волкова Л.В. Акцидентальная инволюция лимфоидных органов и оценка межклеточных взаимодействий //Морфология. - 2007.- Т.131.- № 3. - С.62.
64. Шахов В. П., Дамбаев Г. Ц., Зайцев К. В. [и др.]. Введение в методы культуры клеток, биоинженерии органов и тканей /Томск: STT. – 2004. – 386 с.
65. Шевела Е.Я., Маркова Е.В., Княжева М. А., Проскурина А. С., Ефремов Я. Р., Молодцов В. В., Селедцов И. А, Останин А. А., Богачев С. С., Колчанов Н. А., Черных Е. Р. Изменение транскриптома генов гиппокампа мышей в модели депрессии при интраназальном введении биоактивных факторов М2 макрофагов // Матем. Биология и биоинформатика. - 2020.-Т. 15(2). - С.357–393.
66. Шишкина Г.Т., Дыгало Н.Н. Глюкокортикоидная гипотеза депрессии: История и перспективы // Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2016.- Т.20(2). -С.198-203.
67. Экова М. Р. Морфофункциональные изменения гиппокампа при моделировании комбинированного стресса /Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. Волгоград – 2017, 216 с
68. Ярилин А. А. Иммунология. Учебник /М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010.- 752 с.
69. Язуина Н.А., Комлева Ю.К., Салмина А.Б, Петрова М.М., Морозова Г.А., Малиновская Н.А., Герцог Г.Е Современные

- экспериментальные модели депрессии // Биомедицина. – 2013.- № 1, С. 61–77.
70. Abbott R, Silva M, Labuda J, Thayer M, Cain D, Philbrook P, Sethumadhavan S, Hatfield S, Ohta A, Sitkovsky M. The GS Protein-coupled A2a Adenosine Receptor Controls T Cell Help in the Germinal Center // J Biol Chem.- 2017. – V. 292(4). – P. 1211-1217
  71. Acharjee S, Pittman QJ. Unexpected Microglial «De-activation» Associated with Altered Synaptic Transmission in the Early Stages of an Animal Model of Multiple Sclerosis //Experimental Neuroscience. - 2019.-V.13. -P.258-282.
  72. Açıklan B., Sanlier N. Coffee and its effects on the immune system, Trends // Food Sci Technology. – 2021.- V.114- P.625-632.
  73. Acioglu C, Heary RF, Elkabes S. Roles of neuronal toll-like receptors in neuropathic pain and central nervous system injuries and diseases. //Brain Behaviorai Immunity. – 2022.- V. 102 - P.163-178.
  74. Ader R. Psychoneuroimmunology / University of Chicago Press. - 2007 - V.1.- P. 1269 p.
  75. Ahmetpahic D, Schwarte K, Ambrée O, Bürger C, Falcone V, Seiler K, Kooybaran MR, Grosse L, Roos F, Scheffer J, Jörgens S, Koelkebeck K, Dannlowski U, Arolt V, Scheu S, Alferink J. Altered B Cell Homeostasis in Patients with Major Depressive Disorder and Normalization of CD5 Surface Expression on Regulatory B Cells in Treatment Responders // Neuroimmune Pharmacology. - 2018.- V.13(1). - P.90-99.
  76. Aksoz BE, Aksoz E. Vital Role of Monoamine Oxidases and Cholinesterases in Central Nervous System Drug Research: A Sharp Dissection of the Pathophysiology//Comb Chem High Throughput Screen. – 2020. – V 23(9). -P.877-886.
  77. Al Reef T, Ghanem E. Caffeine: Well-known as psychotropic substance, but little as immunomodulator // Immunobiology. - 2018. – V. 223(12). – P.818-825.

78. Ambrée O, Ruland C, Scheu S, Arolt V, Alferink J. Alterations of the Innate Immune System in Susceptibility and Resilience After Social Defeat Stress //Front Behavioral Neuroscience. – 2018.-V. 12.-P.141-147.
79. Amidfar M, Quevedo J, Z Réus G, Kim YK. Grey matter volume abnormalities in the first depressive episode of medication-naïve adult individuals: a systematic review of voxel based morphometric studies// Internation J Psychiatry Clinicaï Practic. – 2021.-V.25(4). - P.407-420.
80. Ancelin ML, Carrière I, Artero S, Maller J, Meslin C, Ritchie K, Ryan J, Chaudieu I. Lifetime major depression and grey-matter volume //J Psychiatry Neuroscience. - 2019.- V.44(1). - P.45-53.
81. Asadullah K, Sterry W, Volk HD. Interleukin-10 therapy-review of a new approach // Pharmacology Review. - 2003.- V.55(2). - P.241-69.
82. Aschbacher K, Cole S, Hagan M, Rivera L, Baccarella A, Wolkowitz OM, Lieberman AF, Bush NR. An immunogenomic phenotype predicting behavioral treatment response: Toward precision psychiatry for mothers and children with trauma exposure // Brain Behavioral Immunity. - 2022.- V.99.- P.350-362.
83. Ashari NS Mohd, Sanusi SNF Mohamed, Yasin MA Mohd, Hussin Che CM, Wong KK, Shafei MN. Major depressive disorder patients on antidepressant treatments display higher number of regulatory T cells // Malays J Pathology. - 2019.- V.41(2). -P.169-176.
84. Aslam, M., and Ladilov, Yu. The new role of cAMP/AMRK signal transmission // Cells. - 2022. -V.11(2). -P.356-368.
85. Athira K.V., Bandopadhyay S., Samudrala P.K., Naidu V., Lahkar M., Chakravarty S. An Overview of the Heterogeneity of Major Depressive Disorder: Current Knowledge and Future Prospective //Current Neuropharmacology. - 2020.- V.18. -P.168-187.
86. Avgustinovich DF, Tenditnik MV, Bondar NP, Marenina MK, Zhanaeva SY, Lvova MN, Katokhin AV, Pavlov KS, Evseenko VI, Tolstikova TG. Behavioral effects and inflammatory markers in the brain and periphery after repeated social defeat stress burdened by *Opisthorchis felinus* infection in mice //Physiology Behavioral. - 2022.- V. 252.- P.113-118.

87. Bartok E, Hartmann G. Immune Sensing Mechanisms that Discriminate Self from Altered Self and Foreign Nucleic Acids //Immunity. - 2020.- V.53(1). - P.54-77.
88. Bauer ME, Teixeira AL. Neuroinflammation in Mood Disorders: Role of Regulatory Immune Cells //Neuroimmunomodulation. - 2021.- V.28(3). - P. 99-107.
89. Bavaresco DV, Uggioni MLR, Ferraz SD, Marques RMM, Simon CS, Dagostin VS, Grande AJ, da Rosa MI. Efficacy of infliximab in treatment-resistant depression: A systematic review and meta-analysis//Pharmacology Biochemistry Behavioral. - 2020.-V. 172.- P. 83-89.
90. Bekhbat M, Treadway MT, Felger JC. Inflammation as a Pathophysiologic Pathway to Anhedonia: Mechanisms and Therapeutic Implications //Curr Top Behav Neurosci. – 2022.- V.58.- P.397-419.
91. Bekhbat M., Treadway M., Felger J. Inflammation as a Pathophysiologic Pathway to Anhedonia: Mechanisms and Therapeutic Implications //Current Top Behavioral Neuroscience. - 2022.- V.1. – P. 294- 309.
92. Belleau EL, Treadway MT, Pizzagalli DA. The Impact of Stress and Major Depressive Disorder on Hippocampal and Medial Prefrontal Cortex Morphology. Biology Psychiatry. - 2019.- V.85(6). - P.443-453.
93. Bellinger DL, Lorton D. Sympathetic Nerve Hyperactivity in the Spleen: Causal for Nonpathogenic-Driven Chronic Immune-Mediated Inflammatory Diseases (IMIDs)? Internation J Molecular Science. - 2018.- Apr V.19(4). - P118-128.
94. Benedetti F., Poletti S., Vai B., M.G. Mazza, C. Lorenzi, S. Brioschi, V. Aggio, I. Branchi, C. Colombo, R. Furlan, R. Zanardi Higher baseline interleukin-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  hamper antidepressant response in major depressive disorder// Neuropsychopharmacology. - 2021.-V.41.-P.35-44.
95. Beurel E, Medina-Rodriguez EM, Jope RS. Targeting the Adaptive Immune System in Depression: Focus on T Helper 17 Cells// Pharmacology Review. - 2022.- V.74(2). - P.373-386.

96. Beurel E, Medina-Rodriguez EM, Jope RS. Targeting the Adaptive Immune System in Depression: Focus on T Helper 17 Cells // *Pharmacol Rev.* -2022 Apr;74(2) . –P.373-386.
97. Bhattacharjee, Hashish et al. "IL-4 and IL-13 use discrete signaling pathways to express target genes in alternatively activated monocytes/macrophages // *Free Radical Biology and Medicine.* -2013.- V. 54.- P.1-16.
98. Bian HT, Xiao L, Liang L, Xie YP, Wang HL, Wang GH. RGFP966 is protective against lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviors in mice by inhibiting neuroinflammation and microglial activation // *International Immunopharmacology.* -2021.- V. 101.- P 108-115.
99. Bolshakov AP, Tret'yakova LV, Kvichansky AA, Gulyaeva NV. Glucocorticoids: Dr. Jekyll and Mr. Hyde of Hippocampal Neuroinflammation // *Biochemistry (Mosc).* -2021.- V.86(2).- P.156-167.
100. Bondar, N., Bryzgalov, L., Ershov, N., Gusev, F., Reshetnikov, V., Avgustinovich, D., Merkulova, T. Molecular adaptations to social defeat stress and induced depression in mice// *Molecular Neurobiology.* - 2018.-V.55(4). - P.3394-3407.
101. Bronshteyn M, Yang F., Shattuck K., Dawson M., Kumar P., Moore D., Ellis R., Jiang X. Depression is associated with hippocampal volume loss in adults with HIV // *Human Brain Mapp.* - 2021. - V. 42(12). - P. 3750-3759.
102. Brunoni AR, Supasitthumrong T, Teixeira AL, Vieira EL, Gattaz WF, Benseñor IM, Lotufo PA, Lafer B, Berk M, Carvalho AF, Maes M. Differences in the immune-inflammatory profiles of unipolar and bipolar depression // *Journal Affect Disorders.* - 2020.- V.1(262). - P.8-15.
103. Cai X., Zhang L., Wei W. Regulatory B cells in inflammatory diseases and tumor // *International Immunopharmacology.* - 2019.- V. 67.- P.281-286.
104. Çakici N, Sutterland AL, Penninx BWJH, Dalm VA, de Haan L, van Beveren NJM. Altered peripheral blood compounds in drug-naïve first-episode patients with either schizophrenia or major depressive

- disorder: a meta-analysis //Brain Behavioral Immunity. -2020.- V.88.- P.547-558.
105. Cameron HA, Schoenfeld TJ. Behavioral and structural adaptations to stress//Frontiers Neuroendocrinology. – 2018.- V.49.- P.106-113.
  106. Campociaro C., Lytton S., Nihtyanova S., Fuchs D., Ong V.H., Denton C.P. Elevated kynurenine levels in diffuse cutaneous and anti-RNA polymerase III positive systemic sclerosis // Clinical Immunology. - 2019. -V. 199. -P. 18-24.
  107. Canavello P.R., Egan R.J., Bergner C.L., Hart P.C., Cachat J.M., KalueffA.V. Genetic Animal Models of Depression //Neuromethods. - 2009.- V. 44. -№ 24. - P. 191-200.
  108. Cappelletti S, Piacentino D, Ciallella C. A systematic review of caffeine-related suicides and an analysis of the controversial role of caffeine consumption in suicidal risk // Riv Psichiatria. - 2021.- V. 56(6). - P. 283-288.
  109. Carabelli B., Delattre A.M., Waltrick A.P.F., Araujo G., Sukhetsky D., Machado R.B. Fish oil supplement reduces the expression of indolamine-2,3-dioxygenase and increases the level of serotonin in the hippocampus in the LPS depression model //Behavior of the Brain Reserch. - 2020.- V. 390. - P. 1-17.
  110. Carli M, Aringhieri S, Kolachalam S, Longoni B, Grenno G, Rossi M, Gemignani A, Fornai F, Maggio R, Scarselli M. Is Adult Hippocampal Neurogenesis Really Relevant for the Treatment of Psychiatric Disorders? // Current Neuropharmacology. - 2021.- V.19(10). - P.1640-1660.
  111. Carmona-Mora P, Ander BP, Jickling GC, Dykstra-Aiello C, Zhan X, Ferino E, Hamade F, Amini H, Hull H, Sharp FR, Stamova B. Distinct peripheral blood monocyte and neutrophil transcriptional programs following intracerebral hemorrhage and different etiologies of ischemic stroke // J Cereb Blood Flow Metabolism. - 2021.- V. 41(6). - P.1398-1416.

112. Cathomas F., Murrough J.W., Nestler E.J., Han M.H., Russo S.J. Neurobiology of Resilience: Interface Between Mind and Body // *Biology Psychiatry*. - 2019.- V86(6). -P.410-420.
113. Chen L, Wang Y, Niu C, Zhong S, Hu H, Chen P, Zhang S, Chen G, Deng F, Lai S, Wang J, Huang L, Huang R. Common and distinct abnormal frontal-limbic system structural and functional patterns in patients with major depression and bipolar disorder // *Neuroimage Clin*. - 2018. - V.20.- P.42-50.
114. Chen LM, Bao CH, Wu Y, Liang SH, Wang D, Wu LY, Huang Y, Liu HR, Wu HG. Tryptophan-kynurenine metabolism: a link between the gut and brain for depression in inflammatory bowel disease // *J Neuroinflammation*. - 2021.- V.18(1). P.135-143.
115. Cihankaya H, Theiss C, Matschke V. Significance of intercellular communication for neurodegenerative diseases // *Neural Regeneration Reserch*. - 2022.- V.17(5). - P.1015-1017.
116. Clark SM, Vaughn CN, Soroka JA, Li X, Tonelli LH. Neonatal adoptive transfer of lymphocytes rescues social behaviour during adolescence in immune-deficient mice // *Euroupe J Neuroscience*. - 2018. – V. 47(8). - P.968-978.
117. Commons KG. Dorsal raphe organization // *J Chem Neuroanatomy*. - 2020.- V.110.- P.118- 129.
118. Cruz-Pereira JS, Rea K, Nolan YM, O’Leary OF, Dinan TG, Cryan JF. Depression’s Unholy Trinity: Dysregulated Stress, Immunity, and the Microbiome // *Annu Review Psychology*. - 2020.- V. 71.- P.49-78.
119. Cui WQ, Wang ST, Pan D, Chang B, Sang LX. Caffeine and its main targets of colorectal cancer // *World J Gastrointest Oncology*. - 2020.- V.12(2). - P.149-172.
120. Cunningham AJ, Smith JB, Mercer EH. A method for electron microscopic examination of antibody-producing cells // *Immunology*. - 1966.- V.11(5). - P.515-527.
121. Cunningham AJ. A method of increased sensitivity for detecting single antibody-forming cells // *Nature*. - 1965. V. 207(5001). - P.1106-1117.

122. da Silva Souza SV, da Rosa PB, Neis VB, Moreira JD, Rodrigues ALS, Moretti M. Effects of cholecalciferol on behavior and production of reactive oxygen species in female mice subjected to corticosterone-induced model of depression // *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* - 2020.- V.393(1). - P.111-120.
123. Dagenais-Lussier X, Loucif H, Beji C, Telittchenko R, Routy JP, van Grevenynghe J. Latest developments in tryptophan metabolism: Understanding its role in B cell immunity // *Cytokine Growth Factor Rev.* - 2021.- V.59.- P.111-117.
124. Dantzer R, Wollman EE. Les inter-relations entre le système nerveux et le système immunitaire [Relationships between the brain and the immune system]//*J Soc Biology.* - 2003.- V.197(2). - P.81-89.
125. Dantzer R. Neuroimmune interactions: from the brain to the immune system and vice versa // *Physiol Rev*, 2018.- V. 98.- P. 477-504.
126. Daria S, Proma MA, Shahriar M, Islam SMA, Bhuiyan MA, Islam MR. Serum interferon-gamma level is associated with drug-naïve major depressive disorder // *SAGE Open Medicine.* - 2020.-V. 20. - P.8-14.
127. Das R, Emon MPZ, Shahriar M, Nahar Z, Islam SMA, Bhuiyan MA, Islam SN, Islam MR. Higher levels of serum IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  are associated with an increased probability of major depressive disorder // *Psychiatry Reserch.* - 2021.- V. 295. –P. 113-125.
128. De Kloet E.R. de Kloet S.F., de Kloet C.S., de Kloet A.D. Top-down and bottom-up control of stress-coping //*Neuroendocrinology.* - 2019.- V.31(3). -P.1-16.
129. de Sousa Fernandes MS, Santos GCJ, Filgueira TO, Gomes DA, Barbosa EAS, Dos Santos TM, Câmara NOS, Castoldi A, Souto FO. Cytokines and Immune Cells Profile in Different Tissues of Rodents Induced by Environmental Enrichment: Systematic Review //*Int J Mol Sci.* – 2022. – V. 23(19). – P. 11986.
130. Delcourte S, Etievant A, Haddjeri N. Role of central serotonin and noradrenaline interactions in the antidepressants' action: Electrophysiological and neurochemical evidence // *Prog Brain Research.* - 2021.- V.259. –P.67-81.

131. Demchenko I, Tassone VK, Kennedy SH, Dunlop K, Bhat V. Intrinsic Connectivity Networks of Glutamate-Mediated Antidepressant Response: A Neuroimaging Review // *Frontiers Psychiatry*. - 2022.- V.13. – P. 864- 878.
132. Denee T, Ming T, Waller J, Bailey T, Rajkovic-Hooley O, Middleton-Dalby C, Le HH, Zhang Q, McCrone P, Taylor D. A retrospective chart review study to quantify the monthly medical resource use and costs of treating patients with treatment resistant depression in the United Kingdom // *Current Medicine Research Opinion*. - 2021.- V.37(2). - P.311-319.
133. Dina Villanueva-García, Daniel Mota-Rojas, Agatha Miranda-Cortés, Patricia Mora-Medina, Ismael Hernández-Avalos, Alejandro Casas-Alvarado, Adriana Olmos-Hernández, Julio Martínez-Burnes. Neurobehavioral and neuroprotector effects of caffeine in animal models // *J Anim Behavioral Biometeorology*. - 2020.- V. 8. – P.298-307.
134. Dinarello CA. Introduction to the interleukin-1 family of cytokines and receptors: Drivers of innate inflammation and acquired immunity // *Immunology Rev.*- 2018.- V. 281(1). -P.5-7.
135. Dong J, Qu Y, Li J, Cui L, Wang Y, Lin J, Wang H. Cortisol inhibits NF- $\kappa$ B and MAPK pathways in LPS activated bovine endometrial epithelial cells // *Int Immunopharmacology*. - 2018.- V. 56. -P.71-77.
136. Doolin K., Allers K.A., Pleiner S., Liesener A., Farrell C., Tozzi L., O’Hanlon E., Roddy D., Frodl T., Harkin A., O’Keane V. Altered tryptophan catabolite concentrations in major depressive disorder and associated changes in hippocampal subfield volumes // *Psychoneuroendocrinology*. - 2018.- V.95.-P.8-17.
137. Dorvigny BM, Tavares LS, de Almeida IA, Santana LN, de Souza Silva E, de Souza JKU, Soares AF, da Silva Júnior VA, Lima-Filho JV. Antiinflammatory and antiinfective effect of caffeine in a mouse model of disseminated salmonellosis // *Phytotherapy Res.*- 2022.- V. 36(4). - P.1652-1663.

138. Duan T, Du Y, Xing C, Wang HY, Wang RF. Toll-Like Receptor Signaling and Its Role in Cell-Mediated Immunity // *Frontiers Immunology*. - 2022.- V. 3.- P.138-147.
139. Dudek K.A., Dion-Albert L., Kaufmann F.N., Tuck E., Lebel M., Menard C. Neurobiology of resilience in depression: Immune and vascular insights from human and animal studies // *Neuroscience*. - 2021.- V.53(1). -P.183-221.
140. Duman R.S., Aghajanian G.K., Sanacora G., Krystal J.H. Synaptic plasticity and depression: new insights from stress and rapid-acting antidepressants // *Natural Medicine*. - 2016.- V.22(3). -P.238-249.
141. Duman R.S., Deyama S., Fogaça M.V. Role of BDNF in the pathophysiology and treatment of depression: Activity-dependent effects distinguish rapid-acting antidepressants // *Neuroscience*. - 2021.- V.53(1). - P.126-139.
142. Eliwa H., Brizard B., Le Guisquet A.M., Hen R., Belzung C., Surget A. Adult neurogenesis augmentation attenuates anhedonia and HPA axis dysregulation in a mouse model of chronic stress and depression // *Psychoneuroendocrinology*. - 2021.- V.124.-P.105-119.
143. Feng X, Zhao Y, Yang T, Song M, Wang C, Yao Y, Fan H. Glucocorticoid-Driven NLRP3 Inflammasome Activation in Hippocampal Microglia Mediates Chronic Stress-Induced Depressive-Like Behaviors // *Frontiers Molecular Neuroscience*. - 2019.- V. 29.- P.198- 210.
144. Ferentinos P., Maratu E., Antony A., Serretti A., Smirnis N., Mutsatsu P. Beta-interleukin-1 in peripheral blood mononuclear cell lysates as a longitudinal biomarker of response to antidepressants: an experimental study // *Frontline psychiatry*. -2021.- V. 12. – P. 728-738.
145. Filiano AJ, Xu Y, Tustison NJ, Marsh RL, Baker W, Smirnov I, Overall CC, Gadani SP, Turner SD, Weng Z, Peerzade SN, Chen H, Lee KS, Scott MM, Beenhakker MP, Litvak V, Kipnis J. Unexpected role of interferon- $\gamma$  in regulating neuronal connectivity and social behavior // *Nature*. - 2016.- V. 535(7612). – P.425-439.

146. Fox M.E., Lobo M.K. The molecular and cellular mechanisms of depression: A focus on reward circuitry // *Molecular Psychiatry*. - 2019. - V. 24(12). -P. 1798-1815.
147. Fu Z., Brouwer M., Kennis M., Williams A., Cuijpers P., Bockting C. Psychological factors for the onset of depression: a meta-analysis of prospective studies // *BMJ Open*. - 2021.- V.11(7). - P.1-18.
148. Gałęcka M, Szemraj J, Su KP, Halaris A, Maes M, Skiba A, Gałęcki P, Bliźniewska-Kowalska K. Is the JAK-STAT Signaling Pathway Involved in the Pathogenesis of Depression? // *J Clin Medicine*. - 2022.- V.11(7). - P.205-216.
149. Gałęcki P, Talarowska M. Inflammatory theory of depression // *Psychiatr Pol.*- 2018.-V. 52(3). P.437-447.
150. Gao L, Gao T, Zeng T, Huang P, Wong N, Dong Z, Li Y, Deng G, Wu Z, Lv Z. Blockade of Indoleamine 2, 3-dioxygenase 1 ameliorates hippocampal neurogenesis and BOLD-fMRI signals in chronic stress precipitated depression // *Aging (Albany NY)*. - 2021. – V. 13(4). – P. 5875-5891.
151. Garrison A.M., Parrott J.M., Tuñon A., Delgado J., Redus L., O'Connor J.C. Kynurenine pathway metabolic balance influences microglia activity: Targeting kynurenine monooxygenase to dampen neuroinflammation // *Psychoneuroendocrinology*. - 2018.- V. 94.-P.1-10.
152. Gevorgyan MM, Zhanaeva SY, Alperina EL, Lipina TV, Idova GV. The composition of peripheral immunocompetent cell subpopulations and cytokine content in the brain structures of mutant *Disc1-Q31L* mice // *Vavilovskii Zhurnal Genet Seleksii*. - 2020.- V.24(7). - P.770-776.
153. Ghaheri S, Niapour A, Sakhaie N, Sadegzadeh F, Saadati H. Postnatal depletion of serotonin affects the morphology of neurons and the function of the hippocampus in male rats // *Int J Dev Neuroscience*. - 2022.- V. 82(3). - P.222-230.
154. Ghosh R, Kumar PK, Mitra P, Purohit P, Nebhinani N, Sharma P. Circulating T helper 17 and IFN- $\gamma$  positive Th17 cells in Major Depressive Disorder. *Behaviour Brain Reserch*. -2020.- V. 394/ - P.112- 118.

155. Giotakos O. Neurobiology of emotional trauma // *Psychiatriki*. - 2020.- V. 31(2). - P.162-171.
156. Gomes L., Farinha-Ferreira M., Rei N., Gonçalves-Ribeiro J., Ribeiro J.A., Sebastião A.M., Vaz S.H. Of adenosine and the blues: The adenosinergic system in the pathophysiology and treatment of major depressive disorder // *Pharmacology Research*. - 2021.- V. 163.-P. 1-17.
157. Green, C., Shen, X., Stevenson, A. J., Conole, E., Harris, M. A., Barbu, M. C., Hawkins, E. L., Adams, M. J., Hillary, R. F., Lawrie, S. M., Evans, K. L., Walker, R. M., Morris, S. W., Porteous, D. J., Wardlaw, J. M., Steele, J. D., Waiter, G. D., Sandu, A. L., Campbell, A., Marioni, R. E., Whalley, H. C. Structural brain correlates of serum and epigenetic markers of inflammation in major depressive disorder // *Brain, behavior, and immunity*.- 2021. - V.92. –P. 39–48.
158. Gulyaeva NV. Stress-Associated Molecular and Cellular Hippocampal Mechanisms Common for Epilepsy and Comorbid Depressive Disorders // *Biochemistry (Mosc)*. - 2021.- V.86(6). –P.641-656.
159. Gurfein BT, Hasdemir B, Milush JM, Touma C, Palme R, Nixon DF, Darcel N, Hecht FM, Bhargava A. Enriched environment and stress exposure influence splenic B lymphocyte composition. *PLoS One*. 2017 Jul 12;12(7):e0180771.
160. Herman F.J., Simkovic S., Pasinetti G.M. Neuroimmune nexus of depression and dementia: Shared mechanisms and therapeutic targets // *Pharmacology*. - 2019.- V.176(18). - P.3558-3584.
161. Himmerich H, Patsalos O, Lichtblau N, Ibrahim MAA, Dalton B. Cytokine Research in Depression: Principles, Challenges, and Open Questions // *Front Psychiatry*. - 2019.- V. 7. – P.10-30.
162. Horita J., da Silva M., Ferrari C., Vieira E., Moreira F., de Oliveira A., Reis H. Evaluation of Brain Cytokines and the Level of Brain-Derived Neurotrophic Factor in an Inflammatory Model of Depression // *Neuroimmunomodulation*. - 2020.-V. 27(2).- P.87-96.

163. Huang X, Hussain B, Chang J. Peripheral inflammation and blood-brain barrier disruption: effects and mechanisms // *CNS Neurosci Ther.* - 2021.- V. 27(1). – P.36-47.
164. Huang Y, Xu W, Zhou R. NLRP3 inflammasome activation and cell death // *Cell Mol Immunol.* - 2021.- V.18(9). – P. 2114-2127.
165. Hung Y.Y. Antidepressants Improve Negative Regulation of Toll-Like Receptor Signaling in Monocytes from Patients with Major Depression // *Neuroimmunomodulation.* - 2018.- V.25(1).- P.42-48.
166. Huston JM, Ochani M, Rosas-Ballina M, Liao H, Ochani K, Pavlov VA, Gallowitsch-Puerta M, Ashok M, Czura CJ, Foxwell B, Tracey KJ, Ulloa L. Splenectomy inactivates the cholinergic antiinflammatory pathway during lethal endotoxemia and polymicrobial sepsis // *J Exp Medicine.* - 2006.- V. 203(7). – P.1623-1638.
167. Hwang J., Kim K., Ryu S., Lee B. Caffeine prevents LPS-induced inflammatory responses in RAW264.7 cells and zebrafish // *Chem Biol Interact.* - 2016. - V. 248. – P.1-7.
168. Idova G. V, Markova E. V., Gevorgyan M. M., Alperina E. L., Zhukova E. N. Changes in Production of Cytokines by C57Bl/6J Mouse Spleen during Aggression Provoked by Social Stress // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* - 2016.-V.160.- N. 5.- P. 679-682.
169. Idova G.V., Markova E.V., Gevorgyan M.M., Alperina E.L., Zhanaeva S.Y., Cytokine production by splenic cells in C57Bl/6J mice with depression-like behavior depends on the duration of social stress // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* - 2018.- V. 164, № 5.- P. 645-649.
170. Ihim SA, Abubakar SD, Zian Z, Sasaki T, Saffarioun M, Maleknia S, Azizi G. Interleukin-18 cytokine in immunity, inflammation, and autoimmunity: Biological role in induction, regulation, and treatment // *Front Immunology.* - 2022.- V. 13.- P.919-973.
171. Illes P, Rubini P, Ulrich H, Zhao Y, Tang Y. Regulation of Microglial Functions by Purinergic Mechanisms in the Healthy and Diseased CNS // *Cells.* - 2020.- V.9(5). - P.11-18.

172. Ilmiawati C, Fitri F, Rofinda ZD, Reza M. Green coffee extract modifies body weight, serum lipids and TNF- $\alpha$  in high-fat diet-induced obese rats // BMC Reserch Notes. 2020.- V.13(1).- P.208-2015.
173. Ilmiawati C, Fitri F, Rofinda ZD, Reza M. Green coffee extract modifies body weight, serum lipids and TNF- $\alpha$  in high-fat diet-induced obese rats // BMC Res Notes. - 2020.- V.13(1).- P.208-214.
174. Innocenti GM. Defining neuroplasticity // Handb Clin Neurology. - 2022.- V.184. – P.3-18.
175. Insera A., Mastronardi C.A., Rogers G., Licinio. J, Wong M.L. Neuroimmunomodulation in Major Depressive Disorder: Focus on Caspase 1, Inducible Nitric Oxide Synthase, and Interferon-Gamma // Molecular Neurobiology. - 2019. – V. 56(6). - P. 4288-4305.
176. Iris M, Tsou PS, Sawalha AH. Caffeine inhibits STAT1 signaling and downregulates inflammatory pathways involved in autoimmunity // Clinical Immunology. - 2018.- V.192.- P.68-77.
177. Irwin M.R., Cole S., Olmstead R., Breen E.C., Cho J.J., Moieni M., Eisenberger N.I. Moderators for depressed mood and systemic and transcriptional inflammatory responses: A randomized controlled trial of endotoxin // Neuropsychopharmacology. - 2019.- V.44(3). –P. 635-641.
178. Israelov H, Ravid O, Atrakchi D, Rand D, Elhaik S, Bresler Y, Twitto-Greenberg R, Omesi L, Liraz-Zaltsman S, Gosselet F, Schnaider Beerli M, Cooper I. Caspase-1 has a critical role in blood-brain barrier injury and its inhibition contributes to multifaceted repair //J Neuroinflammation. - 2020.- V. 17(1). - P.267-282.
179. Jahangard L, Behzad M. Diminished functional properties of T regulatory cells in major depressive disorder: The influence of selective serotonin reuptake inhibitor. J Neuroimmunol. 2020.- V. (344). - P.77-82.
180. Jakobsen J., Gluud C., Kirsch I. Should antidepressants be used for major depressive disorder? // BMJ Evid Based Med.- 2020.- V.25(4). – P. 130- 141.
181. Kandasamy M, Aigner L. Neuroplasticity, limbic neuroblastosis and neuro-regenerative disorders // Neural Regen Research. - 2018.- V. 13(8).- P.1322-1326.

182. Kappelmann N., Arloth J., Georgakis M.K., Czamara D., Rost N., Ligthart S., Khandaker G.M., Binder E.B. Dissecting the Association Between Inflammation, Metabolic Dysregulation, and Specific Depressive Symptoms: A Genetic Correlation and 2-Sample Mendelian Randomization Study // *JAMA Psychiatry*. - 2021.- V.78(2). - P. 161-170.
183. Khanfar E, Olasz K, Gajdócsi E, Jia X, Berki T, Balogh P, Boldizsár F. Splenectomy modulates the immune response but does not prevent joint inflammation in a mouse model of RA. *Clin Exp Immunol*. 2022.- V.209(2). - P. 201-214.
184. Kim Y. Neuroinflammation-Associated Alterations of the Brain as Potential Neural Biomarkers in Anxiety Disorders // *Int J Mol Sci*. – 2020. – V. 21(18). – P. 654- 669.
185. Kinlein S.A., Phillips D.J., Keller C.R., Karatsoreos I.N. Role of corticosterone in altered neurobehavioral responses to acute stress in a model of compromised hypothalamic-pituitary-adrenal axis function // *Psychoneuroendocrinology*. -2019.- V.102.- P.248-255.
186. Knight MJ, Mills NT, Baune BT. Contemporary methods of improving cognitive dysfunction in clinical depression // *Expert Rev Neurother*. - 2019.- V.19(5). -P. 431-443.
187. Köhler C.A., Freitas T.H., Maes M., de Andrade N.Q., Liu C.S., Fernandes B.S., Stubbs B., Solmi M., Veronese N., Herrmann N., Raison C.L., Miller B.J., Lanctôt K.L., Carvalho A.F. Peripheral cytokine and chemokine alterations in depression: A meta-analysis of 82 studies // *Scandinavian psychiatric act*. -2017.- V.135(5). –P.373-387.
188. Korin B., Ben-Shaanan, T. L., Schiller, M. Highdimensional, single-cell characterization of the brain's immune compartment // *Nat. Neurosciense*. - 2017/- V. 20. – P.130-140.
189. Kovács E, Alatshan A, Budai M, Czimmerer Z, Bíró E, Benkő S. Caffeine Has Different Immunomodulatory Effect on the Cytokine Expression and NLRP3 Inflammasome Function in Various Human Macrophage Subpopulations // *Nutrients*. - 2021. - V. 13(7). – P. 24-39.
190. Kudryavtseva N.N. Development of mixed anxiety/depression-like state as a consequence of chronic anxiety: Review of experimental data //

- Behavioral Neurosciences. Springer, Berlin, Heidelberg. - 2021.- V.10. – P.1-18.
191. Kudryavtseva N.N. Positive fighting experience, addiction-like state, and relapse: Retrospective analysis of experimental studies. //Aggress Behaviour. - 2020.- V. 52. – P.101- 113.
  192. Kudryavtseva N.N. The sensory contact model for the study of aggressive and submis-sive behaviors in male mice // Aggress. Behav. - 1991.- V.17(5). - P. 285-291
  193. Kuhla B. Review: Pro-inflammatory cytokines and hypothalamic inflammation: implications for insufficient feed intake of transition dairy cows //Animal. - 2020.- V. 14(1). – P.65-77.
  194. Kulikova EA, Bazovkina DV, Akulov AE, Tsybko AS, Fursenko DV, Kulikov AV, Naumenko VS, Ponimaskin E, Kondaurova EM. Alterations in pharmacological and behavioural responses in recombinant mouse line with an increased predisposition to catalepsy: role of the 5-HT1A receptor // Br J Pharmacol. - 2016. V.173 (13). - P.2147-2161.
  195. Kumar V. Toll-like receptors in adaptive immunity //Handb Exp Pharmacol. - 2021.- V. 225 (3). - P. 510-519.
  196. Kupferberg A, Bicks L, Hasler G. Social functioning in major depressive disorder //Neurosci Biobehav Rev.- 2016.- V. 313.- P.128-132.
  197. Lecca D, Jung YJ, Scerba MT, Hwang I, Kim YK, Kim S, Modrow S, Tweedie D, Hsueh SC, Liu D, Luo W, Glotfelty E, Li Y, Wang JY, Luo Y, Hoffer BJ, Kim DS, McDevitt RA, Greig NH. Role of chronic neuroinflammation in neuroplasticity and cognitive function: A hypothesis // Alzheimers Dement. -2022.- V. 10.- P. 106-118.
  198. Lee H, Song M, Lee J, Kim JB, Lee MS. Prospective study on cytokine levels in medication-naïve adolescents with first-episode major depressive disorder //J Affect Disorders. - 2020. - V. 1(266). -P.57-62.
  199. Lehmann M., Poffenberger C., Elkahloun A., Herkenham M. Analysis of cerebrovascular dysfunction caused by chronic social defeat in mice // Brain Behavior and Immunity. - 2020.- V.88. P.735-747.
  200. Lemaitre F., Carmona Moratalla A., Forsam-Kiya N., Carpentier Solorio Y., Tastet O., Cleré-Bureau A., Gimon J. V., Haddad E. and

- Arbour N. Capture of dynamic interactions of T-lymphocytes with human nerve cells using frame-by-frame microscopy // *Frontiers of Immunology*. - 2021.- V.12.- P. 668-683.
201. Lenz KM, Dye C, Leuner B. Immune System Alterations and Postpartum Mental Illness: Evidence from Basic and Clinical Research // *Front Glob Womens Health*. - 2022.- V.2. –P.748-758.
  202. Leonard B. Inflammation and depression: A causal or coincidental link to the pathophysiology? // *Acta Neuropsychiatr*. - 2018.- V.30(1). - P.1-16.
  203. Leonard B.E. Impact of inflammation on neurotransmitter changes in major depression: an insight into the action of antidepressants. // *Progressive Neuropsychopharmacology. Biol Psychiatry*. - 2014.-V. 48.- P. 261-267.
  204. Levchuk L.A., Meeder E., Roschina O.V., Loonen A., Boiko A.S., Michalitskaya E.V., Epimakhova E.V., Losenkov I.S., Simutkin G.G., Bokhan N.A., Schellekens A.F., Ivanova S.A. Exploring Brain Derived Neurotrophic Factor and Cell Adhesion Molecules as Biomarkers for the Transdiagnostic Symptom Anhedonia in Alcohol Use Disorder and Comorbid Depression // *Front Psychiatry*. - 2020.- V.11.- P.296-310.
  205. Li H, Shen S, Fu H, Wang Z, Li X, Sui X, Yuan M, Liu S, Wang G, Guo Q. Immunomodulatory Functions of Mesenchymal Stem Cells in Tissue Engineering // *Stem Cells Int*.- 2019.- V.13.- P. 96- 111.
  206. Limanaqi F., Busceti C.L., Biagioni F., Fornai F., Puglisi-Allegra S. Autophagy-Based Hypothesis on the Role of Brain Catecholamine Response During Stress // *Frontiers Psychiatry*. - 2020.- V.11.- P. 1-17.
  207. Lin P.Y., Kavalali E.T., Monteggia L.M. Genetic Dissection of Presynaptic and Postsynaptic BDNF-TrkB Signaling in Synaptic Efficacy of CA3-CA1 Synapses // *Cell Rep*.- 2018.- V.24(6). -P.1550-1561.
  208. Linz, R., Puhlmann L., Apostolakou F., Mantzou E., Papassotiriou I., Chrousos G.P., Engert V., Singer, T. Acute psychosocial stress increases serumBDNF levels: An antagonistic relation to cortisol but nogroup differences after mental training // *Neuropsychopharmacology*. - 2019.- V. 10.- P.1-16.

209. Liu J.J., Wei Y.B., Strawbridge R., Bao Y., Chang S., Shi L., Que J., Gadad B.S., Trivedi M.H., Kelsoe J.R., Lu L. Peripheral cytokine levels and response to antidepressant treatment in depression: A systematic review and meta-analysis // *Mol Psychiatry*. - 2020. V. 25(2). - P. 339-350.
210. Liu Y., Zhao J., Guo W. Emotional Roles of Mono-Aminergic Neurotransmitters in Major Depressive Disorder and Anxiety Disorders // *Front Psychol*. - 2018.- V.9.- P.22- 31.
211. Liu Z.L., Wang X.Q., Liu M.F., Ye B.J. Meta-analysis of association between TPH2 single nucleotide polymorphism and depression // *Neurosci Biobehav Rev*. - 2022. – V. 134. – P. 1-17.
212. Loonen AJ, Ivanova SA. Circuits Regulating Pleasure and Happiness-Mechanisms of Depression // *Front Hum Neurosci*. - 2016.- V.10. – P. 571-581.
213. Lopes J.P., Pliássova A., Cunha R.A. The physiological effects of caffeine on synaptic transmission and plasticity in the mouse hippocampus selectively depend on adenosine A1 and A2A receptors // *Biochem. Pharmacol*. - 2019.- V. 166. –P. 313-321.
214. Lynall M., Kigar S., Lehmann M., DePuyt A., Tuong Z., Listwak S., Elkahlon A., Bullmore E., Herkenham M., Clatworthy M. B-cells are abnormal in psychosocial stress and regulate meningeal myeloid cell activation // *Brain Behav Immun*. - 2021.- V.97. – P. 226-238.
215. Maeng SH, Hong H. Inflammation as the Potential Basis in Depression // *Int Neurol J*. - 2019.- V. 23(2). - P.63-71.
216. Maes M, Rachayon M, Jirakran K, Sodsai P, Klinchanhom S, Gałdecki P, Sughondhabirrom A, Basta-Kaim A. The Immune Profile of Major Dysmood Disorder: Proof of Concept and Mechanism Using the Precision Nomothetic Psychiatry Approach // *Cells*. - 2022.- V.11(7). - P.183-195.
217. Maes M. Depression is an inflammatory disease, but cell-mediated immune activation is the key component of depression // *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2011.- V.35.-P. 664–675.

218. Magaraggia I, Kuiperes Z, Schreiber R. Improving cognitive functioning in major depressive disorder with psychedelics: A dimensional approach // *Neurobiol Learn Mem.* - 2021. V. 183. – P. 107- 167.
219. Maharana J., Panda D., De S. Deciphering the mechanism(s) of ATP binding in three-dimensional NLRP-night models using structural bioinformatics approaches // *PLUS ONE.* - 2018.- V.13.- P.209- 220.
220. Mao Y, Xu Y, Yuan X. Validity of chronic restraint stress for modeling anhedonic-like behavior in rodents: a systematic review and meta-analysis // *J Int Med Res.*- 2022.- V.50(2). -P. 300- 320.
221. Margină D., Ungurianu A., Purdel C., Tsoukalas D., Sarandi E., Thanasoula M., Tekos F., Mesnage R., Kouretas D., Tsatsakis A. Chronic Inflammation in the Context of Everyday Life: Dietary Changes as Mitigating Factors // *Int. J. Environ. Reserch Public Health.* - 2020.- V.17.- P. 35- 41.
222. Marino M, Mele E, Pastorino GMG, Meccariello R, Operto FF, Santoro A, Viggiano A. Neuroinflammation: molecular mechanisms and therapeutic perspectives // *Cent Nerv Syst Agents Medicine Chemistry.* - 2022.- V. 29.- P. 132-139.
223. Markova E., Knyazheva M., Shushpanova T. Neuroleptic effect in aggressive mice after the transplantation of immune cells treated in vitro with chlorpromazine // *European Psychiatry.* - 2016. - T.33. - № S. – P. S263.
224. Markova E., Kozlov V. The Role of IL-1 in the Cytokine Network of the Body: from Gene Expression to Biological Effects. // *Advances in Genetics Research / Nova Science Publishers, Inc, USA.* - 2013. – V. 10. - P.1-29.
225. Markova E.V., Abramov V.V., Korotkova N.A., Kozlov V.A. Effect of transplantation of immunocompetent cell on oriental and exploratory behavior and cytokine gene expression in the brain of experimental animals // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* - 2006.- V.142.- N.3.- P.338-340.

226. Markova E.V., Abramov V.V., Kozlov V.A. Regulation of the Behavior Reactions by the Immune Cells Transplantation // Clinical and Investigative Medicine. - 2004. - V. 27. - № 4. - 729 AM. - P. 50-53 (817).
227. Markova E.V., Abramov V.V., Kozlov V.A. Regulation of the behavior reactions by the immune cells transplantation / Annual of the 2nd European Congress of Immunology, Berlin. - 2009. - p.552.
228. Markova E.V., Chernova T.G., Fillimonov P.N., Korotkova N.A., Abramov V.V., Kozlov V.A. Immunomorphological characteristics of animals with different levels of orientation and exploratory behavior // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. - 2004. - T.138. - N.4. - P.415-417.
229. Markova E.V., Gromykhina N.Yu., Kozlov V.A., Abramov V.V. Dependence of behavior reaction on the initial immune state in mice // Annual of the International Congress ISNIM – 99. - 1999. - P. 58.
230. Markova E.V., Gromykhina N.Yu., Kozlov V.A., Abramov V.V. The peculiarities of the immune status in mice with different level of behavioral reaction // Russian Journal of Immunology. - 2000. - V.5. - N.1. - P. 89-95.
231. Markova E.V., Obukhova L.A., Kolosova N.G. Parameters of cell immune response in Wistar and OXYS rats and their behavior in the open field test // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. - 2003. - T. 136. - № 6. – P. 588-590.
232. Markova E., Kozlov V. Perspectives of the cells therapy in the treatment of drug abuse // European Psychiatry. - 2015. - T. 30. - № S1. – P. 1567.
233. Markova E.V., Abramov V.V., Ryabicheva T.G., Kozlov V.A. Effect of transplantation of splenic lymphoid cells on functional activity of the immune and nervous system in experimental animals // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2009. – V. 147 (4). – P. 453-457.
234. Markova E.V., Knyazheva M. A, Serenko E.V. Aggressive behavior correction by the transplantation of in vitro modulated immune cells // Medical Immunology (Russia). – 2021. –V. 23.- № 4. - P. 693-698.

235. Markova E., Savkin I. Modulated in vitro lymphocytes in the treatment of alcoholism: experimental // *European Psychiatry*. - 2021.-V. 64(S 1). - S. 821.
236. Markova E., Serenko E., Knyazheva M. Aggressive phenotype editing by modulated immune cells // *European Psychiatry*. - 2022.- V. 65(S1). - S95-S96.
237. Marx W, McGuinness AJ, Rocks T, Ruusunen A, Cleminson J, Walker AJ, Gomes-da-Costa S, Lane M, Sanches M, Diaz AP, Tseng PT, Lin PY, Berk M, Clarke G, O'Neil A, Jacka F, Stubbs B, Carvalho AF, Quevedo J, Soares JC, Fernandes BS. The kynurenine pathway in major depressive disorder, bipolar disorder, and schizophrenia: a meta-analysis of 101 studies // *Molecular Psychiatry*. - 2021.- V. 26(8). – P.4158-4178.
238. Mata-Martínez E, Díaz-Muñoz M, Vázquez-Cuevas FG. Glial Cells and Brain Diseases: Inflammasomes as Relevant Pathological Entities // *Frontiers Cell Neurosci*. - 2022.- V.16. - P. 925-929.
239. McKim D.B., Weber M.D., Niraula A., Sawicki C.M., Liu X., Jarrett B.L., Ramirez-Chan K., Wang Y., Roeth R.M., Sucaldito A.D., Sobol C.G., Quan N., Sheridan J.F., Godbout J.P. Microglial recruitment of IL-1 $\beta$ -producing monocytes to brain endothelium causes stress-induced anxiety // *Mol Psychiatry*. - 2018.- V.23(6). – P. 1421-1431.
240. Menezes I., von Werne Baes C., Lacchini R., Juruena M. Genetic biomarkers for differential diagnosis of major depressive disorder and bipolar disorder: A systematic and critical review // *Behaviour Brain Research*- 2019.- V. 14.- P.357-358.
241. Merlo LMF, Peng W., Mandik-Nayak L. Impact of IDO1 and IDO2 on the B Cell Immune Response // *Frontiers Immunology*. - 2022.- V. 13. – P. 886- 895.
242. Messaoud A, Rym M, Wahiba D, Neffati F, Najjar MF, Gobbi G, Manchia M, Valtorta F, Lotfi G, Comai S. Investigation of the relationship among cortisol, pro-inflammatory cytokines, and the degradation of tryptophan into kynurenine in patients with major depression and suicidal behavior // *Curr Top Med Chemistry*. – 2021.- V.10. – P. 1-16.

243. Milenkovic V., Stanton E., Nothdurfter C., Rupprecht R., Wetzel C. The Role of Chemokines in the Pathophysiology of Major Depressive Disorder // *Int J Mol Science* – 2019. – V. 20(9). – P. 22- 34.
244. Montenegro J, Freitas-Silva O, Teodoro AJ. Molecular Mechanisms of Coffee on Prostate Cancer Prevention // *Biomed Reserch Int.*- 2022.- V. 22.- P. 325-344.
245. Morris G, Berk M, Galecki P, Walder K, Maes M. The Neuro-Immune Pathophysiology of Central and Peripheral Fatigue in Systemic Immune-Inflammatory and Neuro-Immune Diseases // *Molecular Neurobiology*. - 2016.- V.53(2). -P.1195-1219.
246. Mueller B, Figueroa A, Robinson-Papp J. Structural and functional connections between the autonomic nervous system, hypothalamic-pituitary-adrenal axis, and the immune system: a context and time dependent stress response network // *Neurol Science*. -2022.- V. 43(2). - P.951-960.
247. Murray A., Taylor J. The toxicity of caffeine/ A. Murray, J. Trailer //Treasure Island (Florida).- 2021.- P. 10-16.
248. Narayanaperumal J, D'souza A, Miriyala A, Sharma B, Gopal G. A randomized double blinded placebo controlled clinical trial for the evaluation of green coffee extract on immune health in healthy adults// *J Tradit Complement Medicine*. - 2022.-V.12(5). - P.455-465.
249. Navarro G, Cordoní A, Brugarolas M, Moreno E, Aguinaga D, Pérez-Benito L, Ferre S, Cortés A, Casadó V, Mallol J, Canela EI, Lluís C, Pardo L, McCormick PJ, Franco R. Cross-communication between Gi and Gs in a G-protein-coupled receptor heterotetramer guided by a receptor C-terminal domain // *BMC Biol*. - 2018. – V. 16(1). – P. 24- 37.
250. Niraula A., Witcher K.G., Sheridan J.F., Godbout J.P. Interleukin-6 Induced by Social Stress Promotes a Unique Transcriptional Signature in the Monocytes That Facilitate Anxiety // *Biol Psychiatry*. - 2019.- V.85(8). – P. 679-689.
251. Nobis A., Zalewski D., Waszkiewicz N. Peripheral Markers of Depression/ A. Nobis, D. Zalewski, N. Waszkiewicz // *Clinical Medicine*. - 2020.- V.9(12). –P. 379-383.

252. Norkeviciene A, Gocentiene R, Sestokaite A, Sabaliauskaite R, Dabkeviciene D, Jarmalaite S, Bulotiene G. A Systematic Review of Candidate Genes for Major Depression // *Medicina (Kaunas)*. - 2022.- V. 58(2). –P. 285-293.
253. Ogawa Y, Kinoshita M, Kawamura T, Shimada S. Intracellular TLRs of Mast Cells in Innate and Acquired Immunity // *Handb Exp Pharmacol*. - 2022.- V.276.- P.133-159.
254. Ogłodek E. Changes in the Serum Levels of Cytokines: IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-8 and IL-10 in Depression with and without posttraumatic stress disorder // *Brain Science*. - 2022.- V.12(3). - P.387-398.
255. Oliveira Maia IC, Vasconcelos Mallmann AS, Adelvane de Paula Rodrigues F, Teodorio Vidal LM, Lopes Sales IS, Rodrigues GC, Ferreira de Oliveira N, de Castro Chaves R, Cavalcanti Capibaribe VC, Rodrigues de Carvalho AM, Maria de França Fonteles M, Chavez Gutierrez SJ, Barbosa-Filho JM, Florenço de Sousa FC. Neuroprotective and Antioxidant Effects of Riparin I in a Model of Depression Induced by Corticosterone in Female Mice // *Neuropsychobiology*. - 2022.- V.81(1). - P.28-38.
256. Ősz BE, Jřtcă G, Ștefănescu RE, Pușcaș A, Tero-Vescan A, Vari CE. Caffeine and Its Antioxidant Properties-It Is All about Dose and Source // *Int J Mol Science*. - 2022.- V.23(21). – P.70-74.
257. Paiva C, Beserra B, Reis C, Dorea JG, Da Costa T, Amato AA. Consumption of coffee or caffeine and serum concentration of inflammatory markers: A systematic review//*Crit Rev Food Sci Nutr*. - 2019.- V.59(4). - P.652-663.
258. Park S.C. Neurogenesis and antidepressant action // *Cell Tissue Res*.- 2019.- V. 377(1). – P. 95-106.
259. Paul ER, Schwieler L, Erhardt S, Boda S, Trepai A, Kămpe R, Asratian A, Holm L, Yngve A, Dantzer R, Heilig M, Hamilton JP, Samuelsson M. Peripheral and central kynurenine pathway abnormalities in major depression // *Brain Behav Immun*. - 2022.- V.101.- P.136-145.

260. Perez-Caballero L, Torres-Sanchez S, Romero-López-Alberca C, González-Saiz F, Mico JA, Berrocoso E. Monoaminergic system and depression // *Cell Tissue Reserch*. - 2019.- V. 377(1). –P. 107-113.
261. Perri R., Carlesimo G.A., Costa A. The contribution of neuropsychological and neuroimaging research to the definition of the neurocognitive correlates of apathy // *Neuropsychologia*. - 2018. – V. 118(B). – P.1-3.
262. Petralia MC, Mazzon E, Fagone P, Basile MS, Lenzo V, Quattropiani MC, Di Nuovo S, Bendtzen K, Nicoletti F. The cytokine network in the pathogenesis of major depressive disorder. Close to translation? // *Autoimmun Rev*.-2020.-V.19(5). - P.102-134.
263. Pitsillou E., Bresnehan S.M., Kagarakis E.A., Wijoyo S.J., Liang J., Hung A., Karagiannis T.C. The cellular and molecular basis of major depressive disorder: Towards a unified model for understanding clinical depression // *Mol Biol Rep*.-2020.- V. 47(1). - P. 753-770.
264. Planchez B., Surget A., Belzung C. Animal models of major depression: disadvantages and problems // *Neural Transm (Вена)*. - 2019.- V.126(11). – P. 1383-1408.
265. Pohanka M. Caffeine Role in the Age-Related Neurodegenerative Diseases, A Review. *Mini Rev Medicine Chemistry*. - 2022.- V.13.-P.205-214.
266. Polityńska B, Pokorska O, Wojtukiewicz AM, Sawicka M, Myśliwiec M, Honn KV, Tucker SC, Wojtukiewicz MZ. Is depression the missing link between inflammatory mediators and cancer? // *Pharmacology Ther*. - 2022.- V. 8. -P.240- 253.
267. Porsolt RD, Bertin A. Behavioral despair in mice: A primary screening test for an-tidepressants. // *Arch. Int. Pharmacodyn*. - 1977.- V.229.- P. 327-336.
268. Presta I., Vismara M., Novellino F., Donato A., Safina P., Scully E., Perrone K.S., Spadea M.F., Melara N. and Donato G. Cells of innate immunity and neurovascular unit // *International Journal of Molecular Sciences*. -2018.-V.19(12). - P. 38-56.

269. Primo de Carvalho Alves L., Sica da Rocha N. Different cytokine patterns associate with melancholia severity among inpatients with major depressive disorder // *Ther Adv Psychopharmacol.* - 2020.- V. 10. –P. 1-18.
270. Provençal N, Arloth J, Cattaneo A, Anacker C, Cattane N, Wiechmann T, Röh S, Ködel M, Klengel T, Czamara D, Müller NS, Lahti J; PREDO team, Räikkönen K, Pariante CM, Binder EB. Glucocorticoid exposure during hippocampal neurogenesis primes future stress response by inducing changes in DNA methylation // *Proc Natl Acad Sci U S A.*- 2020.- V. 117(38). - P.280-285.
271. Przybyła T, Sakowicz-Burkiewicz M, Pawełczyk T. Purinergic signaling in B cells // *Acta Biochim Pol.*- 2018.- V.65(1). –P.1-7.
272. Qiu T, Guo J, Wang L, Shi L, Ai M, Zhu X, Peng Z, Kuang L. Dynamic Microglial Activation is Associated with LPS-induced Depressive-like Behavior in Mice: An [18F] DPA-714 PET Imaging Study // *Bosn J Basic Med Sci.*- 2022.- V. 30.- P.114-127.
273. Rattazzi, L., Piras, G., Ono, M., Dixon, R., Pariante, K.M., and D'accisto, F. CD4<sup>+</sup>, but not CD8<sup>+</sup> T-cells restore the disturbed emotional behavior of mice with RAG-1 immunodeficiency // *Translational Psychiatry.* – 2013. – V.3(7). – P. 280.
274. Ray F, Naomi R. "Genome-wide associative analysis reveals 44 risk variants and clarifies the genetic architecture of major depression" // *Genetics of nature.*- 2018.- V. 50(5). – P. 668-681.
275. Recasens M, Almolda B, Pérez-Clausell J, Campbell IL, González B, Castellano B. Chronic exposure to IL-6 induces a desensitized phenotype of the microglia // *J Neuroinflammation.* - 2021.- V.18(1). - P.31-42.
276. Recasens M, Shrivastava K, Almolda B, González B, Castellano B. Astrocyte-targeted IL-10 production decreases proliferation and induces a downregulation of activated microglia/macrophages after PPT // *Glia.* - 2019. – V.67(4). – P.741-758.
277. Reich K., Garbe C., Blaschke V. et al. Response of psoriasis to Interleukin-10 is associated with suppression of cutaneous type 1

- inflammation, downregulation of the epidermal interleukin-8/CXCR2 pathway and normalization of keratinocyte maturation //J Invest. Dermatol. - 2001.- V. 116.- P. 319-329.
278. Reichmann F, Painsipp E, Holzer P, Kummer D, Bock E, Leitinger G. A novel unbiased counting method for the quantification of synapses in the mouse brain //J Neurosci Methods. - 2015.- V. 30. –P.13-21.
  279. Remes O., Mendes J.F., P. Templeton, Biological, Psychological, and Social Determinants of Depression: A Review of Recent Literature // Brain Science. -2021.-V.11. – P.78-96.
  280. Riff R, Naamani O, Mazar J, Haviv YS, Chaimovitz C, Douvdevani A. A1 and A2A adenosine receptors play a protective role to reduce prevalence of autoimmunity following tissue damage // Clin Exp Immunol. – 2021. - V. 205(3). – P. 278-287.
  281. Ritter P., Findeis H., Bauer M. Ketamine in the Treatment of Depressive Episodes //Pharmacopsychiatry. - 2020.- V.53(2). -P. 45-50.
  282. Rodak K, Kokot I, Kratz EM. Caffeine as a Factor Influencing the Functioning of the Human Body-Friend or Foe? // Nutrients. - 2021. – V.13(9). –P.30- 38.
  283. Roddy D.W., C. Farrell, K. Doolin, E. Roman, L. Tozzi, T. Frodl, V. O'Keane, E. O'Hanlon, The Hippocampus in Depression: More Than the Sum of Its Parts? Advanced Hippocampal Substructure Segmentation in Depression // Biol Psychiatry. - 2019.- V.85. –P. 487-497.
  284. Rogovskii V. Immune Tolerance as the Physiologic Counterpart of Chronic Inflammation // Frontiers Immunology. - 2020.- V.11. –P.20- 31.
  285. Roohi E., Jaafari N., Hashemian F. On inflammatory hypothesis of depression: What is the role of IL-6 in the middle of the chaos? //Neuroinflammation. -2021.- V. 18(1). – P. 45- 57.
  286. Rosas-Ballina M, Ochani M, Parrish WR, Ochani K, Harris YT, Huston JM, Chavan S, Tracey KJ. Splenic nerve is required for cholinergic antiinflammatory pathway control of TNF in endotoxemia // Proc Natl Acad Sci U S A.- 2008.- V. 105(31). -P. 110-118.

287. Rossetti AC, Paladini MS, Trepici A, Mallien A, Riva MA, Gass P, Molteni R. Differential Neuroinflammatory Response in Male and Female Mice: A Role for BDNF // *Front Mol Neurosci.* - 2019.- V.17.- P.12-26.
288. Rosson S, de Filippis R, Croatto G, Collantoni E, Pallottino S, Guinart D, Brunoni AR, Dell'Osso B, Pigato G, Hyde J, Brandt V, Cortese S, Fiedorowicz JG, Petrides G, Correll CU, Solmi M. Brain stimulation and other biological non-pharmacological interventions in mental disorders: An umbrella review // *Neurosci Biobehav Rev.*- 2022.- V.139.- P.104-117.
289. Rua R., Lee J.Y., Silva A.B., Swafford I.S., Maric D., Johnson K.R., McGavern D.B. Infection drives meningeal engraftment by inflammatory monocytes that impairs CNS immunity // *Nat Immunol.* - 2019.- V.20(4). – P.407-419.
290. Sakamoto S, Zhu X, Hasegawa Y, Karma S, Obayashi M, Alway E, Kamiya A. Inflamed brain: Targeting immune changes and inflammation for treatment of depression // *Psychiatry Clin Neurosci.* - 2021.- V. 75(10). - P. 304-311.
291. Sallaberry C., Ardais A.P., Rocha A., Borges M.F., Fioreze G.T., Mioranza S., Nunes F., Pagnussat N., Botton P., Porciúncula L.O. Sex differences in the effects of pre- and postnatal caffeine exposure on behavior and synaptic proteins in pubescent rats // *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* - 2018.- V.81. – P. 416-425.
292. Samojedny S, Czechowska E, Pańczyszyn-Trzewik P, Sowa-Kućma M. Postsynaptic Proteins at Excitatory Synapses in the Brain-Relationship with Depressive Disorders // *Int J Mol Sci.*- 2022.- V. 23(19). - P.11423.
293. Sarno E, Moeser AJ, Robison AJ. Neuroimmunology of depression // *Adv Pharmacology.* - 2021.- V.91.- P.259-292.
294. Savitz J. Role of Kynurenine Metabolism Pathway Activation in Major Depressive Disorders // *Curr Top Behav Neurosci.* - 2017.- V.31.- P.249-267.
295. Savitz J. The kynurenine pathway: a finger in every pie // *Mol Psychiatry.* - 2020.-V.25(1). - P.131-147.

296. Schoenfeld T.J., McCausland H.C., Morris H.D., Padmanaban V., Cameron H.A. Stress and Loss of Adult Neurogenesis Differentially Reduce Hippocampal Volume // *Biol Psychiatry*. - 2017.- V.82.- P. 914-923.
297. Schuster BA, Sowden S, Rybicki AJ, Fraser DS, Press C, Holland P, Cook JL. Dopaminergic Modulation of Dynamic Emotion Perception // *J Neurosci*. - 2022.- V.42(21). - P.4394-4400.
298. Scotton E, Colombo R, Reis J, Possebon G, Hizo G, Valiati F, Géa L, Bristot G, Salvador M, Silva T, Guerra A, Lopes T, Rosa A, Kunz M. BDNF prevents central oxidative damage in a chronic unpredictable mild stress model: The possible role of PRDX-1 in anhedonic behavior // *Behav Brain Res*. - 2020. - V.378. – P. 1-13.
299. Seki K, Yoshida S, Jaiswal MK. Molecular mechanism of noradrenaline during the stress-induced major depressive disorder // *Neural Regen Research*. - 2018.- V.13(7). - P.1159-1169.
300. Serna-Rodríguez MF, Bernal-Vega S, de la Barquera JAO, Camacho-Morales A, Pérez-Maya AA. The role of damage associated molecular pattern molecules (DAMPs) and permeability of the blood-brain barrier in depression and neuroinflammation // *J Neuroimmunol*. - 2022.- V.371. –P. 577-595.
301. Shushtari N, Abtahi Froushani S. Caffeine Augments The Instruction of Anti-Inflammatory Macrophages by The Conditioned Medium of Mesenchymal Stem Cells // *Cell J*.- 2017. - V. 19(3). – P. 415-424.
302. Silva RC, Maffioletti E, Gennarelli M, Baune BT, Minelli A. Biological correlates of early life stressful events in major depressive disorder // *Psychoneuroendocrinology*. - 2021.- V.125.- P.105-113.
303. Sittig SP, van Beek JJP, Flórez-Grau G, Weiden J, Buschow SI, van der Net MC, van Slooten R, Verbeek MM, Geurtz PBH, Textor J, Figdor CG, de Vries IJM, Schreiber G. Human type 1 and type 2 conventional dendritic cells express indoleamine 2,3-dioxygenase 1 with functional effects on T cell priming // *Eur J Immunol*. - 2021.- V. 51(6). –P.1494-1504.

304. Smulders J., Haitink K.M., Fransen N.L., Reimersval E., Hombrink P., Ten Berge I., van Leer R., Huitinga I. and Hamann J. Tissue-resident memory T cells inhabit the human brain // *Connections with Nature*. - 2018.- V. 9 (1). - P. 45-53.
305. Song A.Q., Gao B., Fan J. J., Zhou Y. J., Zhou J., Wang Y. L., Xu L. Z., Wu, W. N. The NLRP1 inflammasome contributes to chronic stress-induced depressive behavior in mice // *Journal of Neuroinflammation*. - 2020.- V. 17(1). – P.178-189.
306. Song J., Kim I., Yu.K. (2021). Animal models for the study of depressive disorder // *Neurology and therapy of the Central nervous system*. - 2021.- V.27(6). – P. 633-642.
307. Song Q, Fan C, Wang P, Li Y, Yang M, Yu SY. Hippocampal CA1  $\beta$ CaMKII mediates neuroinflammatory responses via COX-2/PGE2 signaling pathways in depression // *Neuroinflammation*. - 2018.- V. 15(1). – P. 338-346.
308. Song, C., Nicholson J.D., S.M. Clark, X. Li, A.D. Keegan, L.H. Tonelli Expansion of brain T cells in homeostatic conditions in lymphopenic Rag2<sup>-/-</sup> mice // *Brain Behavior and Immunity*. - 2016. - V. 57. - P. 161–172.
309. Stapelberg N., Bui T., Mansour V, Johnson S, Branjerdporn G, Adhikary S, Ashton K, Taylor N, Headrick J. The pathophysiology of major depressive disorder through the lens of systems biology: Network analysis of the psycho-immune-neuroendocrine physiome // *J Neuroimmunology*. - 2022. - V. 372. - P. 577-584.
310. Strelakova T, Liu Y, Kiselev D, Khairuddin S, Chiu JLY, Lam J, Chan YS, Pavlov D, Proshin A, Lesch KP, Anthony DC, Lim LW. Chronic mild stress paradigm as a rat model of depression: facts, artifacts, and future perspectives // *Psychopharmacology (Berl)*. - 2022.- V. 239(3). – P.663-693.
311. Suttorp M, Classen CF. Splenomegaly in Children and Adolescents. /M. Suttorp, C.F. Classen // *Front Pediatr*. 2021.- V.9.- P. 504 - 511.
312. Syed S., Beurel E., Loewenstein D., Lowell J., Craighead W., Dunlop B., Mayberg H., Dhabhar F., Dietrich W., Keane R., de Rivero

- Vaccari J., Nemeroff C. Defective Inflammatory Pathways in Never-Treated Depressed Patients Are Associated with Poor Treatment Response // *Neuron*. - 2018.- V.99(5). – P. 914-924.
313. Szalach Ł.P., Lisowska K.A., Cubala W.J. The Influence of Antidepressants on the Immune System. // *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 2019.-V. 67.-P.143–151
314. Szczypka M, Sobieszczańska A, Suszko-Pawłowska A, Lis M. Selegiline and clomipramine effects on lymphocyte subsets, regulatory T cells and sheep red blood cell (SRBC)-induced humoral immune response after in vivo administration in mice // *Eur J Pharmacology*. - 2020.- V. 887.- P.173-180.
315. Tacke C, DiStefano PS, Lindsay RM, Metzdorf K, Zagrebelsky M, Korte M. Actions of the TrkB Agonist Antibody ZEB85 in Regulating the Architecture and Synaptic Plasticity in Hippocampal Neurons// *Frontiers Mol Neuroscience*. - 2022.- V.15.- P.945-948.
316. Takahashi A., Chang J. R., Zhang S., Zhang H., Grossman Y., Aleyasin H., Flanigan M. E., Pfau M. L., Menard K., Dumitriou D., Hodes G. E., McEwan, B.S., Nestler, E.J., Khan, M.H., and Russo, S.J. Creating a stress model of repeated social defeat in female mice // *Scientific Reports*. - 2017.- V.7(1). - P. 128-138.
317. Takata F, Nakagawa S, Matsumoto J, Dohgu S. Blood-Brain Barrier Dysfunction Amplifies the Development of Neuroinflammation: Understanding of Cellular Events in Brain Microvascular Endothelial Cells for Prevention and Treatment of BBB Dysfunction // *Front Cell Neurosci*. - 2021.- V.15. – P.661-838.
318. Tanaka M, Tóth F, Polyák H, Szabó Á, Mándi Y, Vécsei L. Immune Influencers in Action: Metabolites and Enzymes of the Tryptophan-Kynurenine Metabolic Pathway // *Biomedicines*. - 2021.- V.9(7). - P.734-741.
319. Tanaka M., Toldi J., Vécsei L. Exploring the Etiological Links behind Neurodegenerative Diseases: Inflammatory Cytokines and Bioactive Kynurenines // *Int. J. Mol. Sci*. 2020. Vol. 21(7). P. 24–31

320. Tang W, Liu H, Chen L, Zhao K, Zhang Y, Zheng K, Zhu C, Zheng T, Liu J, Wang D, Yu L, Fang X, Zhang C, Su KP. Inflammatory cytokines, complement factor H and anhedonia in drug-naïve major depressive disorder // *Brain Behav Immun.*- 2021.-V. 95.- P.238-244.
321. Tavares L.P., Negreiros-Finale, Limo K.M., Silva DE, Pinho V., Teixeira M.M., Soyuz L.P. Transmission of the guilt signal: the role of cAMP in the resolution of inflammation // *Pharmacol. Res.*- 2020. –V.159.- P.105-135.
322. Teale F.W.J., Weber G. Ultraviolet fluorescence of the aromatic amino acids // *Biochemical Journal.* - 1957. -V.65. -P. 476–482.
323. Tian H, Li G, Xu G, Liu J, Wan X, Zhang J, Xie S, Cheng J, Gao S. Inflammatory cytokines derived from peripheral blood contribute to the modified electroconvulsive therapy-induced cognitive deficits in major depressive disorder // *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* - 2021.- V. 271(3). – P. 475-485.
324. Tikhonova M.A., T.G. Amstislavskaya, Y.J. Ho, A.A. Akopyan, M.V. Tenditnik, M.V. Ovsyukova, A.A. Bashirzade, N.I. Dubrovina, L.I. Aftanas, Neuroprotective Effects of Ceftriaxone Involve the Reduction of Abeta Burden and Neuroinflammatory Response in a Mouse Model of Alzheimer's Disease // *Front Neurosci.* - 2021. V.15. –P. 736-786.
325. Ting E., Yang A., Tsai S. Role of Interleukin-6 in Depressive Disorder // *Int J Mol Sci.* – 2020. - V. 21(6). – P. 219- 231.
326. Trifu S.C., Trifu A.C., Aluaş E., Tătaru M.A., Costea R.V. Brain changes in depression // *Rom J MorpholEmbryol.* - 2020. – V. 61(2). – P. 361-370.
327. Turkin, Tuchina, Klempin, 2021. Microglia Function on Precursor Cells in the Adult Hippocampus and Their Responsiveness to Serotonin Signaling // *Front Cell Dev Biol.* - 2021. V. 9. - P. 1-16.
328. Tzanoulinou S, Gantelet E, Sandi C, Márquez C. Programming effects of peripubertal stress on spatial learning // *Neurobiol Stress.* - 2020.- V.13. – P.128-139.
329. Vadodaria KC, Ji Y, Skime M, Paquola AC, Nelson T, Hall-Flavin D, Heard KJ, Fredlender C, Deng Y, Elkins J, Dani K, Le AT, Marchetto

- MC, Weinshilboum R, Gage FH. Altered serotonergic circuitry in SSRI-resistant major depressive disorder patient-derived neurons // *Mol Psychiatry*. -2019.-V. 24(6). – P.808-818.
330. Vahid-Ansari F, Albert PR. Rewiring of the Serotonin System in Major Depression // *Front Psychiatry*. - 2021.-V.12. – P. 802-811.
331. van Beek AA, Hugenholtz F, Meijer B, Sovran B, Perdijk O, Vermeij WP, Brandt RM, Barnhoorn S, Hoeijmakers JH, de Vos P, Leenen PJ, Hendriks RW, Savelkoul HF. Frontline Science: Tryptophan restriction arrests B cell development and enhances microbial diversity in WT and prematurely aging *Ercc1- $\Delta$ 7* mice // *J Leukoc Biol*.- 2017.- V.101(4). - P.811-821.
332. Vestring S, Serchov T, Normann C. Animal Models of Depression - Chronic Despair Model (CDM) // *J Vis Exp*.- 2021.- V. 23. - P.175- 189.
333. Victoria ECG, Toscano ECB, Oliveira FMS, de Carvalho BA, Caliari MV, Teixeira AL, de Miranda AS, Rachid MA. Up-regulation of brain cytokines and metalloproteinases 1 and 2 contributes to neurological deficit and brain damage in transient ischemic stroke // *Microvasc Res*.- 2020.- V.129. –P.963-973.
334. Viveros, M.P. Behavioral characterization of mouse model of premature immunosenescence / M.P. Viveros, B. Fernandes, N. Guayerbas, M.D. Fuente // *Journal of Neuroimmunology*. – 2001. – V.114. – P. 80-88.
335. Vojvodic J, Mihajlovic G, Vojvodic P, Radomirovic D, Vojvodic A, Vlaskovic-Jovicevic T, Peric-Hajzler Z, Matovic D, Dimitrijevic S, Sijan G, Roccia MG, Fioranelli M, Lotti T. The Impact of Immunological Factors on Depression Treatment - Relation Between Antidepressants and Immunomodulation Agents // *Open Access Maced J Med Sci*.- 2019.- V.7(18). – P.3064-3069.
336. Vos C., Aarnoutse R., Spijker J., Groothedde-Kuyvenhoven M., Mihaescu R., Wessels-Basten S., Rovers J., TerHark S., Schene A., Hulscher M., Janzing J. Tricyclic antidepressants for major depressive disorder: a comprehensive evaluation of current practice in the Netherlands // *BMC Psychiatry*. - 2021.- V.21(1). – P. 481- 494.

337. Wachowska K, Gałecki P. Inflammation and Cognition in Depression: A Narrative Review // J Clin Med.- 2021.- V. 10(24). - P.51-59.
338. Wang CS, Kavalali ET, Monteggia LM. BDNF signaling in context: From synaptic regulation to psychiatric disorders // Cell. - 2022.- V.185(1). P.62-76.
339. Wang L, Deng Z, Sun Y, Zhao Y, Li Y, Yang M, Yuan R, Liu Y, Qian Z, Zhou F, Kang H. The Study on the Regulation of Th Cells by Mesenchymal Stem Cells Through the JAK-STAT Signaling Pathway to Protect Naturally Aged Sepsis Model Rats // Front Immunology. - 2022.- V.13.-P.820-835.
340. Wang L, Yang P, Yang C, Yang D, Wu X, Cao T, Zeng C, Chen Q, Zhang S, Zhu Z, Jiao S, Cai H. Disturbance of neurotransmitter metabolism in drug-naïve, first-episode major depressive disorder: a comparative study on adult and adolescent cohorts //Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. - 2022.- V. 272(7). – P.1283-1296.
341. Welcome MO, Mastorakis NE. Stress-induced blood brain barrier disruption: Molecular mechanisms and signaling pathways //Pharmacol Res.- 2020.- V.157. –P.154-169.
342. Więdołcha M, Marcinowicz P, Krupa R, Janoska-Jaździk M, Janus M, Dębowska W, Mosiołek A, Waszkiewicz N, Szulc A. Effect of antidepressant treatment on peripheral inflammation markers - A meta-analysis // Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. - 2018.- V.80(C). – P.217-226.
343. Willner P, Lappas S, Cheeta S, Muscat R. Reversal of stress-induced anhedonia by the dopamine receptor agonist, pramipexole //Psychopharmacology (Berl).- 1994 .-V.115(4) . - P. 454-462.
344. Willner, P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage //Neurobiology of Stress. - 2016.- V.6, P. 78–93.
345. Wohleb E.S., Franklin T., Iwata M., Duman R.S. Integrating neuroimmune systems in the neurobiology of depression //Nat Rev Neurosci. - 2016.- V. 17(8). – P. 497-511.

346. World Health Organization (WHO), 2021. Depression. Accessed on April, 4, 2022. URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>
347. Wu Z, Xiao L, Wang H, Wang G. Neurogenic hypothesis of positive psychology in stress-induced depression: Adult hippocampal neurogenesis, neuroinflammation, and stress resilience // *Int Immunopharmacol.* - 2021.- V.97. – P. 107- 120.
348. Xin P, Xu X, Deng C, Liu S, Wang Y, Zhou X, Ma H, Wei D, Sun S. The role of JAK/STAT signaling pathway and its inhibitors in diseases // *Int Immunopharmacol.* - 2020.- V.80.- P.196-210.
349. Xiong G, Dong D, Cheng C, Jiang Y, Sun X, He J, Li C, Gao Y, Zhong X, Zhao H, Wang X, Yao S. Potential structural trait markers of depression in the form of alterations in the structures of subcortical nuclei and structural covariance network properties // *Neuroimage Clin.* - 2021. – V.32. – P.862- 871.
350. Xiong J, Lipsitz O, Chen-Li D, Rosenblat JD, Rodrigues NB, Carvalho I, Lui LMW, Gill H, Narsi F, Mansur RB, Lee Y, McIntyre RS. The acute antisuicidal effects of single-dose intravenous ketamine and intranasal esketamine in individuals with major depression and bipolar disorders: A systematic review and meta-analysis // *J Psychiatr Res.*- 2021.- V.134. – P.57-68.
351. Xu C, Feng C, Huang P, Li Y, Liu R, Liu C, Han Y, Chen L, Ding Y, Shao C, Shi Y. TNF $\alpha$  and IFN $\gamma$  rapidly activate PI3K-AKT signaling to drive glycolysis that confers mesenchymal stem cells enhanced anti-inflammatory property // *Stem Cell Res Ther.* - 2022.- V.13(1). – P.491- 502.
352. Xu X, Piao HN, Aosai F, Zeng XY, Cheng JH, Cui YX, Li J, Ma J, Piao HR, Jin X, Piao LX. Arctigenin protects against depression by inhibiting microglial activation and neuroinflammation via HMGB1/TLR4/NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$ /TNFR1/NF- $\kappa$ B pathways // *Br J Pharmacol.* - 2020.- V.177(22). - P.5224-5245.

353. Yavi M, Lee H, Henter ID, Park LT, Zarate CA Jr. Ketamine treatment for depression: a review // *Discov Ment Health*. - 2022. – V.2(1). – P.9-15.
354. Yoshikai Y, Miake S, Matsumoto T, Nomoto K, Takeya K. Effect of stimulation and blockade of mononuclear phagocyte system on the delayed footpad reaction to SRBC in mice // *Immunology*. - 1979.- V.38(3). – P.577-583.
355. Zacková L, Jáni M, Brázdil M, Nikolova YS, Marečková K. Cognitive impairment and depression: Meta-analysis of structural magnetic resonance imaging studies // *Neuroimage Clin*. - 2021. –V.32.- P.820-830.
356. Zarif H, Nicolas S, Guyot M, Hosseiny S, Lazzari A, Canali MM, Cazareth J, Brau F, Golzné V, Dourneau E, Maillaut M, Luci C, Paquet A, Lebrigand K, Arguel MJ, Daoudlarian D, Heurteaux C, Glaichenhaus N, Chabry J, Guyon A, Petit-Paitel A. CD8+ T cells are essential for the effects of enriched environment on hippocampus-dependent behavior, hippocampal neurogenesis and synaptic plasticity//*Brain Behav Immunity*. - 2018.- V.69.- P.235-254.
357. Zhang MM, Guo MX, Zhang QP, Chen XQ, Li NZ, Liu Q, Cheng J, Wang SL, Xu GH, Li CF, Zhu JX, Yi LT. IL-1R/C3aR signaling regulates synaptic pruning in the prefrontal cortex of depression // *Cell Biosci*. - 2022.-V.12(1). - P. 90-101.
358. Zhang R, Zhang U, Yong Z, Hans, Changj. Reduction of brain gray matter volume in patients with the first episode of major depressive disorder: a quantitative meta-analysis //*The boundary of psychiatry*. - 2021.- V.12. – P.671-688.
359. Zhang, Z. J., Zheng, X. X., Zhang, X. Y., Zhang, Y., Huang, B. Y., & Luo, T. Aging alters Hv1-mediated microglial polarization and enhances neuroinflammation after peripheral surgery // *CNS neuroscience & therapeutics*. -2020.-V.26(3). - P. 374–384.
360. Zhao Ming is the same. "The interaction of genes and the environment in major depressive disorder"// *World Journal of Clinical Cases*. - 2021.- V.9(31). – P. 9368-9375.

361. Zhao W, Ma L, Cai C, Gong X. Caffeine Inhibits NLRP3 Inflammasome Activation by Suppressing MAPK/NF- $\kappa$ B and A2aR Signaling in LPS-Induced THP-1 Macrophages // *Int J Biol Sci.*- 2019.- V.15(8). - P.1571-1581.
362. Zhong L, Peng Q, Zeng X. The role of adenosine A1 receptor on immune cells // *Inflamm Res.*- 2022.- V.71(10-11). – P.1203-1212.
363. Zhou B, Zhu Z, Ransom BR, Tong X. Oligodendrocyte lineage cells and depression // *Mol Psychiatry.* - 2021.- V. 26(1). – P. 103-117.
364. Zhou D, Yu H, Yao H, Yuan S, Xia Y, Huang L, Shen Y, Zhang J, Chen W. A novel joint index based on peripheral blood CD4+/CD8+ T cell ratio, albumin level, and monocyte count to determine the severity of major depressive disorder // *BMC Psychiatry.* - 2022.- V.22(1). – P.248-258.
365. Zhou QG, Zhu XH, Nemes AD, Zhu DY. Neuronal nitric oxide synthase and affective disorders // *IBRO Rep.*- 2018.- V.5. –P.116-132.
366. Zhou XT, Bao WD, Liu D, Zhu LQ. Targeting the Neuronal Activity of Prefrontal Cortex: New Directions for the Therapy of Depression // *Curr Neuropharmacol.* - 2020.- V.18(4). – P.332-346.
367. Zhu ZH, Song XY, Man LJ, Chen P, Tang Z, Li RH, Ji CF, Dai NB, Liu F, Wang J, Zhang J, Jia QF, Hui L. Comparisons of Serum Interleukin-8 Levels in Major Depressive Patients with Drug-Free Versus SSRIs Versus Healthy Controls // *Front Psychiatry.* - 2022. – V.13. – P.858-875.
368. Zhuo R, Cheng X, Luo L, Yang L, Zhao Y, Zhou Y, Peng L, Jin X, Cui L, Liu F, Yang L. Cinnamic Acid Improved Lipopolysaccharide-Induced Depressive-Like Behaviors by Inhibiting Neuroinflammation and Oxidative Stress in Mice // *Pharmacology.* - 2022.- V.107(5-6). – P.281-289.
369. Zorbaz T, Madrer N, Soreq H. Cholinergic blockade of neuroinflammation: from tissue to RNA regulators. *Neuronal Signal.* - 2022.- V.6(1). - P. 353-375.
370. Zurawski Z, Thompson Gray AD, Brady LJ, Page B, Church E, Harris NA, Dohn MR, Yim YY, Hyde K, Mortlock DP, Jones CK, Winder

- DG, Alford S, Hamm HE. Disabling the G $\beta\gamma$ -SNARE interaction disrupts GPCR-mediated presynaptic inhibition, leading to physiological and behavioral phenotypes // *Sci Signal*. - 2019. - V.12(569). - P. 85-95.
371. Zwilling M, Theiss C, Matschke V. Caffeine and NAD<sup>+</sup> Improve Motor Neural Integrity of Dissociated Wobbler Cells In Vitro // *Antioxidants (Basel)*. - 2020. – V. 9(6). – P. 460- 472.