

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(ФГБОУ ВО КУБГМУ МИНЗДРАВА РОССИИ)

*На правах рукописи*

**КРАВЧЕНКО Сергей Владимирович**

**ПАТОЛОГИЧЕСКИЕ ТРЕВОГОПОДОБНЫЕ СОСТОЯНИЯ У КРЫС  
И ВОЗМОЖНОСТЬ ИХ КОРРЕКЦИИ  
НЕМЕДИКАМЕНТОЗНЫМИ МЕТОДАМИ**

14.03.03 – патологическая физиология

**Диссертация**

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

**Каде Азамат Халидович**

**Краснодар – 2020**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Введение .....</b>	<b>5</b>
<b>Глава 1. Обзор литературы .....</b>	<b>15</b>
1.1. Общие механизмы формирования тревоги .....	15
1.2. Особенности формирования тревогоподобных состояний у животных .....	18
1.3. Способы оценки выраженности тревогоподобного поведения у лабораторных животных .....	22
1.4. Патогенез тревогоподобных состояний, возникающих у животных при моделировании паркинсонизма .....	24
1.4.1. Существующие подходы к моделированию психоэмоциональных расстройств, сопутствующих паркинсонизму .....	24
1.4.2. Тревогоподобные состояния и другие нарушения немоторного характера, сопутствующие паркинсонизму .....	31
1.4.3. Патогенез тревогоподобных состояний, возникающих при моделировании паркинсонизма .....	34
1.4.4. Роль митохондриальной дисфункции в развитии тревогоподобных состояний .....	37
1.5. Основные принципы профилактики и лечения тревожных расстройств .....	38
1.6. ТЭС-терапия как метод транскраниальной электростимуляции .....	40
<b>Глава 2. Методология и методы исследования .....</b>	<b>44</b>
2.1. Характеристика экспериментальных животных .....	44
2.2. Модель тревогоподобного состояния при ротенон-индуцированном паркинсонизме .....	44
2.3. Схема эксперимента .....	45

2.4. Оценка тревогоподобного поведения крыс .....	47
2.4.1. Техника оценки тревогоподобного поведения крыс в тесте «открытое поле» .....	47
2.4.2. Техника оценки тревогоподобного поведения крыс в тесте «темно-светлая камера» .....	49
2.5. Оценка моторного дефицита у крыс .....	51
2.6. Тест «вис на горизонтальной перекладине» .....	52
2.7. Методика транскраниальной электростимуляции .....	53
2.8. Иммуногистохимический анализ содержания тирозин-гидроксилазы в нейронах черной субстанции .....	55
2.9. Методика выполнения забора крови у крыс .....	56
2.10. Методика иммуноферментного анализа содержания гормонов и нейромедиаторов (кортикостерона, дофамина, бета-эндорфина, серотонина) в плазме крови крыс .....	56
2.11. Статистическая обработка данных .....	58
<b>Глава 3. Результаты собственных исследований .....</b>	<b>59</b>
3.1. Показатели тревогоподобного поведения у крыс в тесте «темно-светлая камера» при моделировании ротенон-индуцированного паркинсонизма .....	59
3.2. Показатели тревогоподобного поведения крыс в тесте «открытое поле» при моделировании ротенон-индуцированного паркинсонизма .....	61
3.2.1. Горизонтальная активность .....	61
3.2.2. Вертикальная активность .....	63
3.3. Влияние ТЭС-терапии на содержание тирозингидроксилазы в нейронах черной субстанции у крыс с моделью ротенон-индуцированного паркинсонизма .....	70
3.4. Уровни $\beta$ -эндорфина в плазме крови у крыс различных групп .....	71

3.5. Уровня кортикостерона в плазме крови у крыс различных групп .....	73
3.6. Уровни дофамина в плазме крови у крыс различных групп .....	75
3.7. Уровни серотонина в плазме крови у крыс различных групп .....	76
3.8. Показатели моторных нарушений у крыс при моделировании ротенон-индуцированного паркинсонизма .....	78
3.9. Влияние ТЭС-терапии на показатели крыс в тесте «вис на горизонтальной перекладине» .....	79
<b>Глава 4. Обсуждение полученных результатов .....</b>	<b>81</b>
<b>Заключение .....</b>	<b>98</b>
<b>Выводы .....</b>	<b>99</b>
<b>Практические рекомендации .....</b>	<b>100</b>
<b>Литература .....</b>	<b>101</b>
<b>Приложения .....</b>	<b>124</b>

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования**

Тревожные расстройства (включая панические расстройства, социально-тревожные расстройства, генерализованное тревожное расстройство и другие формы) являются широко распространенной группой нарушений психики, способной наносить экономический ущерб. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, до 50 % людей во всем мире в определенный момент своей жизни могут страдать от нервно-психических расстройств. Среди них, исходя из результатов эпидемиологических исследований, тревожные расстройства составляют от 6,0 % до 13,6 % всех психических нарушений – вторая по распространенности группа, после расстройств настроения (Ю.А. Игнатова и др., 2018). По данным других исследований эпидемиологии психических заболеваний за последние десятилетия тревожные расстройства, при усредненной оценке их распространенности, имеют более высокий уровень, чем другие расстройства и занимают первое место в структуре всех психических расстройств в мире (Z. Steel et al., 2014; Н.Г. Незнанов и др., 2017). В Российской Федерации психиатрами отмечается наличие барьеров при обращении лиц с тревожными расстройствами в психиатрическую службу, что имеет возможную связь со стигматизацией психиатрической помощи (Н.Г. Незнанов и др., 2017; Л.В. Моор, Л.Д. Рахмазова, 2018). При этом отечественными психиатрами пациентам с тревожными и связанными со стрессом расстройствами чаще всего ставятся диагнозы смешанного тревожного и депрессивного расстройства, а также расстройства адаптации. В силу того, что по своей сути данные диагнозы являются скорее предварительными, они не всегда ведут к назначению адекватной терапии, необходимой пациентам (Н.Г. Незнанов и др., 2017), что дополнительно усложняет ситуацию с терапией тревожных расстройств в России.

Симптоматика тревожных расстройств может иметь разнообразный характер и заключаться в наличии стойкого чувства беспокойства, относительно определенных событий и ситуаций, раздражительности, затруднений концентрации внимания, повышенной утомляемости и многих других симптомов (М.С. Троицкий и др., 2018). При этом тревожные расстройства нередко сопровождаются снижением точности и скорости процессов зрительно-моторной координации (А.А. Чепелюк и др., 2018). Современный ритм жизни, связанный с необходимостью принятия огромного количества важных решений, зачастую в условиях либо недостатка, либо наоборот – избытка информации способствует нарушениям функционирования центральной нервной системы (Т.А. Караваева и др., 2016), что делает создание новых способов терапии тревожных расстройств особенно актуальным.

Нередко патологическая тревога, вместе с депрессией и другими аффективными расстройствами может являться синдромом некоторых заболеваний центральной нервной системы. В частности, тревожно-депрессивные расстройства являются одним из проявлений не моторной симптоматики при паркинсонизме (А. Bonito-Oliva et al., 2014; M.P.G. Broen et al., 2016; R.F. Pfeiffer, 2016; A. Sauerbier et al., 2016; F. Faivre et al., 2018). Они имеют место наряду с такими, характерными для данного заболевания, нарушениями моторного характера, как тремор покоя, мышечная ригидность, брадикинезия (Е.Ю. Корнюхина и др., 2009; F.L. Campos et al., 2013; M. Casarrubea et al., 2019), значительно ухудшая течение болезни. Тревога и депрессия, возникающие при паркинсонизме, являются не просто симптомами, но и имеют тесную патогенетическую взаимосвязь с ним. Они могут возникать под действием одних и тех же факторов внешней среды. В том числе, некоторых сельскохозяйственных пестицидов, к которым относится и ротенон. Он, способствуя повреждению и гибели дофаминергических нейронов черной субстанции, за счет развития оксидативного стресса (E.L. Streck et al., 2014; K. Radad et al., 2019) и активации апоптоза (S. Heinz et al., 2017; E. Chernivec et al., 2018), ведет к развитию тревожности.

При воздействии ротенона основные проявления обусловлены ингибированием митохондриального комплекса I дыхательной цепи митохондрий (N. Xiong, 2012). Это приводит к усилению образования активных форм кислорода, повреждающих дофаминергические нейроны. Вызываемые ротеноном деполимеризация микротрубочек и нарушение их стабильности, также приводят к нарушению работы митохондрий (N. Xiong et al., 2017; Y. Ren, J. Feng, 2007). Существенную роль в развитии различных патологических психоэмоциональных состояний, включая тревогу (R.F. McCann, D.A. Ross, 2018), может так же играть оксидативный стресс (E.L. Streck et al., 2014).

Таким образом, тревога при паркинсонизме может являться не просто одним из сопутствующих не моторных расстройств, но и иметь общие патогенетические механизмы. Высокая распространенность тревожных расстройств, их способность снижать уровень жизни пациентов, коморбидность тревожных расстройств с органическими поражениями центральной нервной системы, например, паркинсонизмом, делают задачу изучения и разработки новых способов терапии данной группы заболеваний весьма актуальной. Организационные препятствия, связанные фармакотерапией, предметно-количественным учетом препаратов, относящихся к списку III Перечня наркотических и психотропных веществ (Н.Г. Незнанов и др., 2017), подчеркивает высокий уровень актуальности разработки методов немедикаментозной терапии тревожных расстройств, которым может стать метод транскраниальной электростимуляции.

Транскраниальная электростимуляция (ТЭС-терапия) – перспективный лечебный метод, обладающий множеством эффектов, среди которых особо стоит выделить антиоксидантный, обусловленный способностью ТЭС-терапии увеличивать синтез  $\beta$ -эндорфина (В.Д. Левичкин и др., 2014). Благодаря данному эффекту ТЭС-терапия является возможным перспективным методом немедикаментозной коррекции тревожных состояний.

### **Степень разработанности темы исследования**

К настоящему времени, большое количество экспериментальных данных демонстрирует эффективность ТЭС-терапии в коррекции самых различных нарушений. Можно выделить воздействие на нейроиммуноэндокринную регуляцию (А.Х. Каде и др., 2017), имеющее гомеостатический характер (А.И. Трофименко и др., 2014; А.С. Липатова и др., 2018). Показана возможность ТЭС-терапии оказывать антиоксидантное действие за счет восстановления уровня  $\beta$ -эндорфина, обладающего антиоксидантными свойствами благодаря своей пептидной природе (В.Д. Левичкин и др., 2014). Потенциал применения метода в неврологии обеспечен данными о результатах исследований, в ходе которых был выявлен нейропротекторный эффект ТЭС-терапии у больных с ишемическим инсультом (А.И. Трофименко и др., 2015). При этом эффективность данного метода при коррекции аффективных расстройств, например тревожности, особенно на фоне нейродегенеративных заболеваний остается малоизученным.

В большинстве работ по изучению различных терапевтических эффектов ТЭС-терапии, внимание исследователей, было обращено в первую очередь на усиление секреции  $\beta$ -эндорфина, синтез гипофизарных, надпочечниковых гормонов и цитокинов (С.О. Апсалямова, 2013; А.И. Трофименко и др., 2014; В.О. Небогатиков, 2015). Проведены исследования, посвященные оценке характера экспрессии гена *c-fos* в паравентрикулярном ядре гипоталамуса у крыс в условиях комбинированного стресса (А.Х. Каде и др., 2017). При этом характер поведения крыс под действием ТЭС-терапии изучен в сравнительно малой степени. В частности – не изучалось влияние ТЭС-терапии на изменение выраженности паттернов тревогоподобного поведения у крыс с моделью ротенон-индуцированного паркинсонизма в поведенческих тестах, таких, как, например, тест «темно-светлая камера» и «открытое поле».



**Цель исследования:** изучить возможности коррекции тревогоподобного состояния у крыс с моделью ротенон-индуцированного паркинсонизма посредством ТЭС-терапии.

**Задачи исследования:**

1. Оценить влияние ТЭС-терапии на выраженность патологического тревогоподобного поведения крыс, возникающего на фоне хронической интоксикации ротеноном в поведенческом тесте «открытое поле».

2. Оценить влияние ТЭС-терапии на выраженность патологического тревогоподобного поведения крыс, возникающего на фоне хронической интоксикации ротеноном в поведенческом тесте «темно-светлая камера».

3. Изучить возможность влияния ТЭС-терапии на степень дегенеративных дистрофических изменений черной субстанции головного мозга крыс с моделью ротенон-индуцированного паркинсонизма, посредством оценки содержания фермента тирозингидроксилазы.

4. Оценить влияние ТЭС-терапии на выраженность индивидуальных суммированных баллов моторного дефицита.

5. Оценить влияние ТЭС-терапии на уровни плазменного  $\beta$ -эндорфина, серотонина, дофамина и кортикостерона.

6. На основании полученных результатов оценить возможность применения ТЭС-терапии в качестве немедикаментозного метода коррекции патологического тревогоподобного состояния у крыс, возникающего на фоне нейродегенеративных заболеваний, в частности – паркинсонизма.

**Научная новизна.** Впервые в экспериментальном исследовании показана возможность коррекции психоэмоциональных и моторных нарушений у крыс с тревогоподобным состоянием, развившимся при ротенон-индуцированном паркинсонизме, с помощью ТЭС-терапии.

Впервые показано, что при использовании ТЭС-терапии уменьшается выраженность некоторых паттернов тревогоподобного поведения, развившегося у крыс при ротенон-индуцированном паркинсонизме.

Впервые установлено уменьшение выраженности дегенеративно-дистрофических изменений в нейронах черной субстанции у крыс с ротенон-индуцированным паркинсонизмом под влиянием ТЭС-терапии.

### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Результаты проведенного исследования дополняют и расширяют имеющиеся представления о механизмах формирования тревожных состояний, как психоэмоциональных нарушений, сопутствующих нейродегенеративным заболеваниям центральной нервной системы. Показана существенная значимость изучения поведенческих паттернов крыс с патологическим тревогоподобным состоянием как одного из доступных и высокоинформативных инструментов для проведения дальнейших экспериментальных и клинических исследований анксиолитического эффекта ТЭС-терапии. Все это имеет теоретическую значимость для проведения исследований в сфере патологической физиологии и психофизиологии патологических тревогоподобных состояний у животных.

Проведенное исследование показало возможности ТЭС-терапии по положительному влиянию на ряд психоэмоциональных и моторных нарушений у крыс с ротенон-индуцированным паркинсонизмом. Эти свидетельства об эффективности используемого метода для коррекции, возникающих при нейродегенеративных заболеваниях, сопутствующих патологических тревожных расстройств. Результаты работы вносят существенный вклад в обоснование дальнейшего изучения и практического применения ТЭС-терапии в качестве метода профилактики и коррекции патологических тревогоподобных состояний развивающихся на фоне нейродегенеративных заболеваний и воздействия нейротоксинов.

### **Методология и методы исследования**

Получение и обработка экспериментальных данных осуществлялись в соответствии с разработанной и утвержденной в рамках данной работы схемой исследования. Были использованы современные и адекватные

поставленным задачам описательный, экспериментальный, поведенческий, гистологический и статистический методы.

В исследовании были задействованы 145 самцов белых нелинейных крыс. В начале эксперимента животные, после недельного периода адаптации, подвергались поведенческим тестам без предварительного обусловливания «открытое поле» и «темно-светлая камера» для фиксации исходного уровня выраженности тревогоподобного поведения. Степень выраженности тревогоподобного поведения оценивали по количеству времени, проведенного в светлом отсеке «темно-светлой камеры», общей горизонтальной исследовательской активности (количеству пересеченных секторов всей площади арены установки) и горизонтальной исследовательской активности в центре «открытого поля», а также по уровню вертикальной активности – количеству стоек на задних лапах с опорой и без опоры на боковые стенки. Из части крыс была образована контрольная группа животных ( $n = 40$ ), остальные животные подвергались системному введению нейротоксина ротенона в течение месяца. После этого выжившие животные, в соответствии с поставленными задачами, случайным образом были разделены на две группы: группа сравнения ( $n = 40$ ) – животные, с моделью ротенон-индуцированного паркинсонизма и основная группа ( $n = 40$ ) – животные, с моделью ротенон-индуцированного паркинсонизма, получившие 7 сеансов ТЭС-терапии с 4-й по 5-ю недели эксперимента. На 4-й и на 5-й неделях эксперимента у всех животных так же выполнялся анализ выраженности паттернов тревогоподобного поведения в поведенческих тестах «открытое поле» и «темно-светлая камера».

Для определения степени выраженности дегенеративных дистрофических изменений черной субстанции использовался иммуногистохимический метод, детектируемый белок интереса – фермент тирозингидроксилаза. Для определения содержания гормонов и медиаторов в крови использовался иммуноферментный анализ.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Применение ТЭС-терапии приводит к меньшей выраженности паттернов тревогоподобного поведения в тесте «открытое поле» у крыс с патологическим тревогоподобным состоянием на фоне хронической интоксикации ротеноном, относительно крыс, не получавших ТЭС-терапию.

2. Применение ТЭС-терапии приводит к меньшей выраженности паттернов тревогоподобного поведения крыс в тесте «темно-светлая камера» у крыс с патологическим тревогоподобным состоянием на фоне хронической интоксикации ротеноном относительно крыс, не получавших ТЭС-терапию.

3. Применение ТЭС-терапии способно улучшить сохранность морфологической структуры черной субстанции у крыс с моделью ротенон-индуцированного паркинсонизма, в сравнении с крысами, не подвергнутыми её воздействию.

### **Степень достоверности и апробации результатов**

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточным количеством наблюдений, объемом материала, использованием современных и информативных методов исследования и статистического анализа при обработке полученных данных. Основные положения работы представлялись и обсуждались на конференциях:

- II Всероссийской конференции студентов и молодых ученых с международным участием «Естественнонаучные основы медико-биологических знаний»;
- региональной межвузовской учебно-методической конференции с международным участием «Естественно-научное образование: стратегия, проблемы, достижения»;
- VIII Съезд Научного медицинского общества анатомов, гистологов и эмбриологов России
- VI съезд биофизиков России (представлено 2 работы).

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Основные результаты исследования используются в научно-исследовательской и педагогической работе на кафедрах общей и клинической патологической физиологии, нервных болезней и нейрохирургии с курсом нервных болезней и нейрохирургии ФПК и ППС, психиатрии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России (г. Краснодар), в ГБУЗ «Специализированная клиническая психиатрическая больница № 1» министерства здравоохранения Краснодарского края (г. Краснодар).

### **Публикации результатов исследования**

По материалам диссертации опубликовано 10 работ, из которых 6 в изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий или входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для опубликования основных положений диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук и издания, приравненные к ним, в том числе 3 статьи индексируемых международной цитатно-аналитической базе данных Scopus.

### **Личный вклад автора в исследование**

Диссертантом были выполнены формулирование целей и задач исследования, разработка дизайна исследования (85 %), проведен поиск и обзор зарубежных и отечественных литературных источников (95 %). Автор проводил эксперименты на лабораторных животных (крысы), сбор материала для лабораторного исследования (95 %), статистическую обработку и анализ результатов исследования (98 %). Автор принимал непосредственное участие в составлении выводов и формулировании научных положений, предложений для внедрения, а также, в разработке практических рекомендаций (90 %), в работе над написанием статей и тезисов (85 %), подготовил текст и иллюстративный материал для диссертации (95 %).

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 130 страницах машинописного текста, который включает 20 таблиц и 23 рисунка. Работа состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, главы, отражающей результаты собственных исследований, обсуждения полученных результатов, выводов, списка литературы, содержащего 61 отечественных и 114 иностранных источников, и приложений.

## ГЛАВА 1.

### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

#### 1.1. Общие механизмы формирования тревоги

Тревога является естественным адаптационным механизмом, биологическая роль которого заключается в подаче сигнала о возможных угрожающих изменениях, как во внешнем мире, так и в самом организме (Т.А. Булатова, Е.И. Черных, 2010), играющим, таким образом, существенную роль в поддержании гомеостаза. Она основана на способности организма связывать появление новых раздражителей со степенью потенциальной угрозы для него (Е.В. Вербицкий, 2013), сигнализируя о недифференцированном источнике опасности (Н.Ю. Ракитская, 2009). Сопровождается тревога появлением ощущения чрезмерного дискомфорта и беспокойства, предчувствия угрозы, внутреннего напряжения (Е.В. Воскресенская и др., 2015; L.A. Gunaydin, A.C. Kreitzer, 2016). Для организма, находящегося в состоянии тревоги, характерны: активация вегетативной и нейроиммунноэндокринной систем, психомоторное возбуждение, и появление специфических паттернов поведения (Т. Steimer, 2011).

Важным моментом в понимании состояния тревожности является то, что тревога, возникающая в условиях внешней опасности, отличается от естественного страха. Страх всегда имеет объект в виде четко идентифицированного реального внешнего стимула, а тревога развивается, когда источник опасности неясен и неизвестен, отражая при этом возможность предстоящей угрозы (Т.А. Булатова, Е.И. Черных, 2010; А.О. Намт, 2020), то есть в отсутствии непосредственного воздействия на организм специфических угрожающих факторов (L.A. Gunaydin,

А.С. Kreitzer, 2016). Помимо этого, тревогу от страха отличает большая продолжительность во времени первой (L.A. Gunaydin, А.С. Kreitzer, 2016).

Упрощенно нейробиологические механизмы тревоги можно описать в виде трехкомпонентной модели, предложенной Джеффри Греем (1982). Взаимодействуют три системы:

1) система поведенческого торможения – в её функционировании основная роль отводится дофаминергическим нейронам вентрального шва и норадренергическим проекциями голубого пятна (*Locus Coeruleus*);

2) система «борись или беги» – в ней ключевую роль играют нейроны вентромедиального гипоталамуса, клетки центрального серого вещества мозга и миндалина;

3) система поведенческой активации – дофаминовые механизмы вентрального тегмента, аккумбенса, вентрального стриатума (Е.В. Вербицкий, 2013).

Ключевую роль в реализации проявлений тревожной реакции в этой модели играет система поведенческого торможения. Она отслеживает совпадение новой ситуации, в которой оказывается организм, с сохраненными в памяти поведенческими паттернами. В случае возникновения ситуации, для которой не имелось заранее сохраненного в памяти паттерна поведения, система поведенческого торможения тормозит текущее поведение, повышая внимание к анализу окружающей ситуации (Е.В. Вербицкий, 2013). И у человека, и у более простых в плане строения центральной нервной системы организмов, происходит непрерывное сканирование объектов, находящихся в поле восприятия и выявления различий полученной информации между сериями таких сканирований. Причем, даже у человека, этот процесс частично осуществляется с участием наиболее древних в филогенетическом отношении структур лимбической системы, в некоторой степени независимо от высших корковых структур (С. Belzung, Р. Philippot, 2007).



При длительном воздействии анксиогенных условий окружающей среды и психоэмоционального стресса, либо неадекватной адаптационной модели поведения, адаптационная функция тревоги не может быть реализована и тревога становится патологическим состоянием – тревожным расстройством, нередко переходящим в депрессию, которое может препятствовать возможности успешно справляться со стрессовыми событиями и, даже, приводит к развитию психосоматической патологии – в этой ситуации речь идет уже о патологической тревоге (Т. Steimer, 2011; Э.З. Якупов, Ю.В. Трошина, 2016). У человека, страдающего тревожным расстройством, появляются трудности в распознавании событий и факторов, указывающих на безопасность, в мышлении начинают доминировать темы опасности и угрозы. В то время как у человека в развитии тревоги свою роль играет и когнитивный компонент, заключающийся в том, что в мышлении пациента с тревожным расстройством, доминирующими мыслями становятся темы опасности. Такой пациент предполагает наступление событий, имеющих пагубные последствия, испытывает трудности в трактовке окружающей обстановки как безопасной (Т.А. Караваева и др., 2016). Поведенческие реакции при тревожном расстройстве становятся несоразмерными характеру окружающей обстановки и реальному уровню потенциальной опасности (J. Mogeno-Rius, 2018). Для тревожных расстройств характерна коморбидность, прежде всего с депрессией (А.Н. Боголепова и др., 2017; Т.В. Моргачева, 2018). Тревожные расстройства являются одним из факторов риска возникновения депрессивных расстройств (Л.Н. Касимова и др., 2018). Так, после длительного нахождения организма в состоянии тревоги, поддерживаемой хронической стрессовой ситуацией, по мере развития данной патологии может развиваться вторичная депрессия (С.Н. Мосолов, 2007; Т.В. Моргачева, 2018) (таблица 1.1).

**Таблица 1.1** – Пересечение симптоматики депрессивного и тревожного синдромов  
(на основе С.Н. Мосолова, 2007, Т.В. Моргачевой, 2018)

Симптомы, образующие депрессивный синдром	Пересечение симптоматики депрессивного и тревожного синдромов (данные симптомы могут в равной степени встречаться как при депрессиях, так и при тревожных расстройствах)	Симптомы, образующие тревожный синдром
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Пониженное настроение</li> <li>• Психомоторная заторможенность</li> <li>• Апатия</li> <li>• Тоска</li> <li>• Ангедония</li> <li>• Запоры</li> <li>• Идеи самоуничтожения</li> <li>• Чувство безнадежности</li> <li>• Пониженная самооценка</li> <li>• Перепады настроения в течение дня (ухудшение по утрам)</li> <li>• Ранние пробуждения</li> <li>• Психическая анестезия</li> <li>• Снижение аппетита</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Бессонница</li> <li>• Психомоторная ажитация</li> <li>• Гипертензия</li> <li>• Тахикардия</li> <li>• Сухость во рту</li> <li>• Раздражительность</li> <li>• Дисфории</li> <li>• Патологические болевые ощущения</li> <li>• Трудности с концентрацией внимания</li> <li>• Слабость</li> <li>• Усталость</li> <li>• Ипохондрия</li> <li>• Анорексия и гиперфагия</li> <li>• Идеи вины, осуждения</li> <li>• Пессимистическая оценка будущего</li> <li>• Субъективное переживание в виде предчувствие надвигающейся беды</li> <li>• Снижение социальной активности</li> <li>• Чрезмерная рефлексия по поводу возможных угроз</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Тремор</li> <li>• Гипергидроз</li> <li>• Потливость</li> <li>• Тошнота</li> <li>• Диарея</li> <li>• Одышка</li> <li>• Мышечное напряжение</li> <li>• Внутреннее беспокойство</li> <li>• Чувство угрозы</li> <li>• Тревога ожидания</li> <li>• Фобии</li> <li>• Страхи</li> <li>• Тревожные пробуждения в течение сна</li> <li>• Трудности засыпания</li> <li>• Субъективное ощущение т.н. «ком в горле»</li> </ul>

## **1.2. Особенности формирования тревогоподобных состояний у животных**

Для воссоздания в экспериментальных условиях различных расстройств в деятельности центральной нервной системы человека широко распространено использование моделей, создаваемых на животных

(P.C. Hart et al., 2016). Моделирование тревожных состояний у животных позволяет проводить разнообразные исследования, в частности изучение роли различных этиологических факторов в формировании тревоги, проводить эксперименты с использованием новых средств её коррекции. При этом большое значение имеет сопоставимость моделей тревоги и методов оценки её выраженности у животных и применимости полученных данных в клинической практике к человеку. Необходимо корректно интерпретировать наблюдаемое в условиях эксперимента поведение животного и находить параллели с человеком (P.C. Hart et al., 2016). С одной стороны – имеются экспериментальные данные, говорящие о сходстве физиологических систем обеспечения адаптивных форм поведения у человека и животных (Н.Н. Каркищенко и др., 2016). С другой стороны, имеются и определённые различия – у человека в развитии тревоги существенную роль играет когнитивный компонент. В мышлении пациента с тревожным расстройством, доминирующими мыслями являются темы опасности – такой пациент предполагает события, имеющие пагубные последствия, испытывает трудности в трактовке окружающей обстановки как безопасной (Т.А. Караваева и др., 2016). С другой стороны – у животных, в отличие от человека, динамика функционирования обеспечения адаптивных форм поведения в большей степени зависит не от степени психического напряжения, а от физиологического статуса организма (Н.Н. Каркищенко и др., 2016). В связи с этим, ранее в подходах к оценке уровня тревожности у животных уделяли внимание, в первую очередь, вегетативным реакциям основываясь на идее К. Холла (1936) об активации вегетативного поведения в состоянии тревожности (А.Х. Каде и др., 2018). Моделирование имело достаточно грубый характер, сводясь, преимущественно, к жестким воздействиям на организм животного – использование электрического тока, подвешивание в висячем положении и т.п.

При описании результатов моделирования тревожных состояний у животных, в частности в тестах «открытого поля» и «приподнятого крестообразного лабиринта», вместо понятия «тревога» некоторые исследователи использовали термин «подобное тревоге поведение» (anxiety-like behavior) (К. Belovicova et al., 2017), который можно считать более корректным для описания психоэмоционального состояния, возникающего у животных. В связи с этим, дальше в тексте данной работы будут использоваться понятия «тревогоподобное состояние» и «тревогоподобное поведение», являющиеся поведенческим индикатором тревогоподобного состояния животного. Согласно современным концепциям, выраженность тревогоподобного поведения у животных определяется балансом двух мотиваций – врожденной мотивации исследовать новые места и склонностью избегать места, в которых возможно возникновение потенциально опасных для организма ситуаций (А.В. Амикишиева, 2009, L.A. Gunaydin, A.C. Kreitzer, 2016). Физиологически адекватный баланс этих двух мотиваций позволяет поддерживать гомеостаз, обеспечивая соответствующую условиям окружающей среды поведенческую стратегию в каждой ситуации. При патологических тревогоподобных состояниях происходит срыв адаптивного баланса разведывательного и избегающего поведения, приводящий к выраженному падению исследовательского поведения до патологически низкого уровня (L.A. Gunaydin, A.C. Kreitzer, 2016), приводящего к дезадаптации организма (А.В. Амикишиева, 2009).

На основе вышеописанного, механизмы формирования уровня исследовательской активности у животных упрощённо можно представить в виде схемы, изображенной на рисунке 1.1.

В свою очередь, на основе этой же схемы, можно схематически изобразить и упрощенный принцип изменения исследовательской активности у животных, находящихся в тревогоподобном состоянии, что представлено на рисунке 1.2.

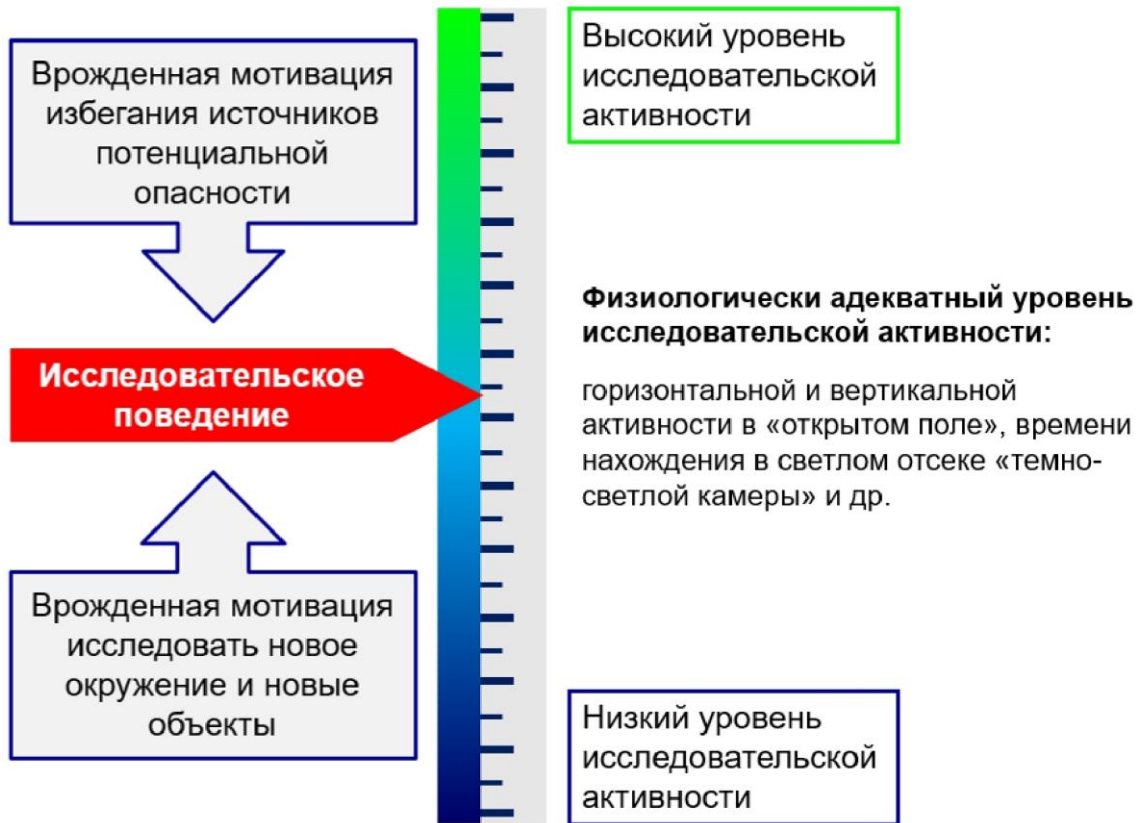


Рисунок 1.1 – Формирование уровня исследовательской активности у животных



Рисунок 1.2 – Исследовательское поведение у животных в тревогоподобном состоянии

### **1.3. Способы оценки выраженности тревогоподобного поведения у лабораторных животных**

Методы создания моделей тревожных состояний у животных подразделяют на две большие группы – без предварительного обусловливания и с предварительным обусловливанием (тренингом). Методы с предварительным обусловливанием основаны на формировании условного рефлекса с отрицательным подкреплением, в то время как методы без предварительного обусловливания основаны на врожденной естественной исследовательской активности животных при наличии природных стимулов, вызывающих чувство страха или тревоги (А.В. Амикишиева, 2009). В их основе лежат неологические концепции тревожности, согласно которым, поведение, способное привести к усугублению угрожающей ситуации, в том числе, исследовательская активность, могут подавляться возникающим чувством тревоги (А.Х. Каде и др., 2018).

Из известных методов для скрининга анксиолитических препаратов и изучения нейробиологических основ тревоги на грызунах наиболее распространенными моделями без предварительного обусловливания являются такие поведенческие тесты, как: «отрытое поле» (Open field test), «приподнятый крестообразный лабиринт» (Elevated plus-maze), «темно-светлая камера» (Light-Dark box test / Light-dark exploration box) (A. Ennaceur, P.L. Chazot, 2016; F. Mohammad et al., 2016) и Суок-тест (B.M. Sweis et al., 2016). Тест «открытое поле» (open field test) является одним из старейших классических методов, предложен в 30-е годы К. Холлом (1934) для оценки, как общей двигательной активности, так и исследовательского поведения испытуемых животных (В.Н. Каркищенко и др., 2012). В основе данного теста лежит врожденный страх грызунов перед открытыми пространствами. Таким образом, уровень тревожности животного влияет на его поведение в специальной открытой арене с бортами (А.В. Амикишиева, 2009;

В.Н. Каркищенко и др., 2012; S. J. Schnörr et al., 2012; N. Sestakova et al, 2013; M. Luo, et al., 2014; А.Х. Каде и др., 2018), размеченной на квадраты или сектора для оценки характера перемещений животного (P.C. Hart et al., 2016). В другом тесте – «приподнятый крестообразный лабиринт» (Elevated plus-maze) используется конструкция из перекрещенных пар рукавов (P.C. Hart et al., 2016) – двух закрытых (безопасная зона) и двух открытых (расцениваются животным как потенциально-опасные места). Закрытые рукава являются аналогом норы – пространства, воспринимаемого грызунами как безопасное. Открытые рукава воспринимается грызунами, как потенциально опасное место. Время, проведенное в открытых и закрытых рукавах (и соотношение между ними) и другие поведенческие паттерны, соответственно, отображают уровень тревожности (А.В. Амикишиева, 2009). «Суок-тест» является гибридом одновременно нескольких классических поведенческих моделей («открытое поле», «приподнятый крестообразный лабиринт», «темно-светлая камера»), в его основе лежит экспозиция исследуемых животных на горизонтальной аллее (Н.А. Ломтева и др., 2013; А.Х. Каде и др., 2018). Как и в остальных моделях без предварительного обусловливания, суок-тест основан на анализе поведения грызунов в условиях новизны, поведения, которое формируется в значительной степени на основе баланса между неофилией – стремлением исследовать новую обстановку, и неофобией – чувством страха и тревоги перед ней (Н.А. Худякова, 2014). Тест «темно-светлая камера» (Light-Dark box test / Light-dark exploration box), который разработан и описана в 1980 году (J. Crawley et al., 1980; T. Serchov et al., 2016), основан на врожденной естественной склонности грызунов к избеганию ярко освещённых мест и их спонтанной исследовательской активности в условиях воздействия умеренных стрессоров, к которым относится новое неизвестное окружение и яркий свет (T. Serchov et al., 2016). Для проведения данного теста используется установка в виде камеры, разделенной на две неравные части –

ярко освещенную и затемненную, которые отделены друг от друга перегородкой с отверстием (Т. Serchov et al., 2016; А.Х. Каде и др., 2018).

Использование всех вышеописанных методов укладывается в современные концепции о формировании уровня тревогоподобного поведения как результата баланса двух противоположных мотиваций – исследовательской активности в новых условиях, в том числе при наличии природных стимулов, вызывающих чувство страха или тревоги и избегающего поведения в условиях, которые могут быть потенциально опасны (А.В. Амикишиева, 2009, L.A. Gunaydin, A.C. Kreitzer, 2016). Исходя из лежащих в основе поведенческих моделей тревоги без предварительного обусловливания неологических концепций тревожности, согласно которым, уровень исследовательская активность как формы поведения, способной привести к усугублению угрожающей ситуации, снижается под воздействием чувства тревоги (А.Х. Каде и др., 2018).

#### **1.4. Патогенез тревогоподобных состояний, возникающих у животных при моделировании паркинсонизма**

##### **1.4.1. Существующие подходы к моделированию психоэмоциональных расстройств, сопутствующих паркинсонизму**

Тревогоподобные состояния могут быть вызваны у животных различными способами, в том числе и моделированием нейродегенеративных заболеваний, включая паркинсонизм. Паркинсонизм является одним из самых распространенных нейродегенеративных заболеваний (А.А. Таппахов, Т.Я. Николаева, 2016). В его основе, которого лежит прогрессирующая гибель дофаминергических нейронов Pars compacta черной субстанции, приводящая к истощению продукции дофамина (А. Bose, M.F. Beal, 2016; F.L. Campos et al., 2016) и нарушению дофаминергической иннервации



базальных ядер мозга (Д.Н. Воронков и др., 2013), которая, наравне с образованием телец Леви, состоящих из  $\alpha$ -синуклеина, является характерным патологическим признаком данного заболевания (A. Bose, M.F. Beal, 2016). Классическими симптомами, характерными для паркинсонизма являются моторные нарушения: тремор покоя, мышечная ригидность, брадикинезия, поструральная неустойчивость (Е.Ю. Корнюхина и др., 2009; F.L. Campos et al., 2013; А.А. Таппахов, Т.Я. Николаева, 2016; J.A.S. Crippa et al., 2019). Кроме того, имеет место ряд не моторных проявлений (A. Bonito-Oliva et al., 2014; А.А. Таппахов, Т.Я. Николаева, 2016; F. Faivre et al., 2018). У животных при ротенон-индуцированном паркинсонизме в поведенческих тестах, например, «открытое поле», формируется выраженное тревогоподобное поведение (V. Venkateshgobi et al., 2018).

Существует множество подходов к моделированию психоэмоциональных расстройств, развивающихся на фоне течения паркинсонизма, из которых двумя основными являются:

- генетические модели, основаны на формировании мутаций в генах, вовлеченных в развитие заболевания. Наиболее часто используются следующие гены: ген, кодирующий белок  $\alpha$ -синуклеин, LRRK2, PARKIN, DJ-1, PINK1 и других (S.A. Jagmag et al., 2016).

- модели, создаваемые на основе введения токсинов (S.A. Jagmag et al., 2016) (таблица 1.2).

Изучение генов, связанных с развитием наследственных форм паркинсонизма, помогло пролить свет на патогенез тревогоподобных состояний, возникающих при данном заболевании. Гены, принимают участие в обеспечении контроля над качеством работы митохондрий, деградацией протеинов, выраженностью оксидативного стресса, которые играют роль в гибели дофаминергических клеток (L. Scott, V.L. Dawson, T.M. Dawson, 2017).

**Таблица 1.2** – Основные токсины, используемые для создания токсических моделей паркинсонизма. Ключевые преимущества и недостатки основанных на них моделей (на основе S.A. Jagmag et al., 2016)

Используемый нейротоксин	Преимущества модели	Недостатки модели
1	2	3
б-гидроксидофамин	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Воспроизводимость формирующегося поражения</li> <li>• Преобладает потеря дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции, над вентральной областью покрышки</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Нарушает работу как дофаминергического, так и норадренергического транспорта в равной степени</li> <li>• Отсутствует формирование телец Леви</li> <li>• Требуется выполнение технически сложной инъекции нейротоксина непосредственно в структуры головного мозга посредством дорогостоящей стереотаксической техники</li> </ul>
1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Воспроизводимость формирующегося поражения</li> <li>• Преобладает потеря дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции, над вентральной областью покрышки</li> <li>• Дегенерация выше в нервных терминалах, идущих к скорлупе</li> <li>• Возможность системного введения</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Не выяснен механизм конвертации промежуточных продуктов метаболизма данного нейротоксина в ион 1-метил-1-фенилпиридин (МФП+)</li> <li>• Отсутствует формирование телец Леви</li> <li>• Не наблюдаются типичные для паркинсонизма поведенческие паттерны у лабораторных животных</li> </ul>
паракват	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Гибель нейронов компактной части черной субстанции</li> <li>• Образование телец Леви</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Только лишь предполагаемая специфичность воздействия на дофаминергические нейроны</li> <li>• Невысокая надежность эффекта от воздействия на нигростриатную дофаминергическую систему</li> </ul>

## Окончание таблицы 1.2

1	2	3
метамфетамин	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Повреждение нейритов дофаминергических нейронов компактной части черной субстанции</li> <li>• Прогрессирующая гибель дофаминергических нейронов на поздних стадиях</li> <li>• Усиливает эффекты других нейротоксинов в высоких концентрациях</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Так же повреждает серотонинергические нейриты</li> <li>• До сих пор не разработаны подходящие модели</li> </ul>
ротенон	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Воспроизводимость формирующегося поражения</li> <li>• Преобладает потеря дофаминергических нейронов в компактной части черной субстанции, над вентральной областью покрышки</li> <li>• Образование телец Леви</li> <li>• Возможность системного введения</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Высокая смертность у экспериментальных крыс в процессе формирования модели, из чего следуют некоторые проблемы с воспроизводимостью</li> </ul>

Торможение работы митохондриального комплекса I приводит к образованию активных форм кислорода (Н.Е. Moon, S.H. Paek, 2015). Это, в свою очередь, приводит к развитию в клетке оксидативного стресса, повреждению липидов, протеинов и ДНК (P.P. Michel, E.C. Hirsch, S. Hunot, 2016). Причинами, нарушающими работу митохондриального комплекса I, являются не только генетические факторы, но и факторы внешней среды. Факторы внешней среды, приводящие к нарушениям митохондриального комплекса I – нейротоксины, например 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин (МФТП) (Н.Е. Moon, S.H. Paek, 2015), или широко используемый в сельском хозяйстве ротенон (С.Н. Иллариошкин, 2015; Н.Е. Moon, S.H. Paek, 2015). Это подтверждено в эпидемиологических

исследованиях, выявивших в 1,4 раза более высокий риск развития паркинсонизма у лиц, проживающих в сельскохозяйственных регионах, где возможно широкое использование пестицидов (С.Н. Иллариошкин, 2015). Другим нарушением работы митохондрий, вносящим свой вклад в развитие патологических тревогоподобных состояний, возникающих при моделировании паркинсонизма, является нарушение процессов деления и слияния митохондрий. В здоровой клетке эти процессы находятся в состоянии динамического баланса (Н.Е. Moon, S.H. Paek, 2015). Кроме того, показано, что ротенон вызывает деполимеризацию микротрубочек (E. Chernives et al., 2018). Нормальная динамика указанных процессов играет важную роль в обеспечении жизнеспособности нейронов, работы синапсов и передачи нервных импульсов, а также поддерживает жизнеспособность самих митохондрий, обеспечивая тем самым репарацию их ДНК и воспроизведение самих митохондрий. При паркинсонизме происходит нарушение этих процессов (Н.Е. Moon, S.H. Paek, 2015).

Среди всех существующих моделей тревогоподобных состояний при паркинсонизме, основанных на использовании нейротоксинов, самыми распространенными являются: 6-гидроксидофамин (J.C.F. Vieira et al., 2019), 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридин, паракват, метамфетамин и ротенон (S.A. Jagmag et al., 2016). Наиболее приближенной по патогенетическим механизмам к паркинсонизму является модель с использованием ротенона (Н.А. Малиновская и др., 2012; S.A. Jagmag et al., 2016).

Ведение ротенона приводит к развитию нейродегенеративных процессов в клетках черной субстанции, её компактной части. При этом задействуются патогенетические механизмы, приводящие к нарушению работы митохондрий, из-за развития оксидативного стресса и самоокисления дофамина (Y. Ren, J. Feng, 2007; N. Xiong et al., 2012; N.F. Abdelkader et al., 2017).

Имеются различные подходы к моделированию указанных нарушений при помощи ротенона. Один метод заключается в создании моделей *in vitro*, т.е. изучение воздействия ротенона на культуры клеток, в том числе и культуры нейронов определенных типов (например, культуры дофаминергических нейронов). Это позволяет исследовать патогенетические механизмы заболевания: механизмы передачи сигнала, регуляции экспрессии генов (Н.А. Малиновская и др., 2012).

Другой подход – моделирование паркинсонизма *in vivo*, на целом организме, в частности – на крысах (Н.А. Малиновская и др., 2012). Моделирование *in vivo* позволяет изучать не только механизмы развития заболевания на молекулярном и клеточном уровне, но и оценивать влияние вызываемых ротеноном нарушений, возникающих в дофаминовых нейронах черной субстанции, не только на моторные функции лабораторных животных, но и на их поведение, в том числе на нарушения в эмоционально-волевой сфере, включая патологическую тревогу и депрессию.

У животных с ротеноновой моделью *in vivo* возможны различные варианты течения формируемого паркинсонизма. Они реализуются путем «острого» (кратковременного), либо «хронического» (длительного) системного введения ротенона. Возможны модели со стереотаксическим введением ротенона в структуры мозга и с отсроченным развитием повреждений (Н.А. Малиновская и др., 2012).

Модели острого ротенонового паркинсонизма требуют введения ротенона мини-помпами в концентрации 10–18 мг/кг веса в течение 7–9 дней. Несмотря на более быстрое формирование модели, в сравнении с хроническими моделями имеется недостаток, развитие акинезии и ригидности мышц лишь у некоторых животных. Более высокие дозы ротенона, как правило, приводят к смерти животных от системных осложнений, из-за чего специфические повреждения среднего мозга не успевают развиваться (Н.А. Малиновская и др., 2012). К тому же острый

характер развития такого рода нарушений в меньшей степени соответствует хроническому прогрессированию паркинсонизма.

Создание хронических моделей это более трудоемкий путь, требующий более длительного введения ротенона. Кроме того увеличивается время проведения эксперимента. Однако постепенное формирование модели заболевания патогенетически ближе к естественному механизму развития паркинсонизма. Это позволяет лучше изучить механизмы формирования, не только моторных, но и психоэмоциональных нарушений.

При создании хронических моделей также существуют различные способы введения ротенона. Одним из вариантов является подкожное введение ротенона.

Модель хронического ротенон-индуцированного паркинсонизма может иметь варианты, в зависимости от дозировки вводимого токсина и схемы его введения (количество инъекций в сутки, общее количество инъекций, продолжительность формирования модели и т.д.). Существует несколько возможных вариантов реализации данной группы моделей:

- модель, формируемая подкожным введением ротенона в масляной эмульсии, либо в растительном (соевом) масле в дозировке 2 мг/кг веса. Продолжительность инъекций – 3–5 недель (Н.А. Малиновская и др., 2012),
- модель, создаваемая двукратным (утром и вечером) – подкожным введением ротенона в более низкой, чем в предыдущей модели, дозировке – 1 мг/кг веса. Продолжительность формирования – 30–40 дней (Н.А. Малиновская и др., 2012),
- модель, создаваемая использованием порошка ротенона, растворенного в диметилсульфоксиде в пропорции 1 : 1, с добавлением полиэтиленгликоля, либо масла. Инъекции выполнялись один раз в день, по схеме введения 2,5 мг/кг/сут. на протяжении 4-х недель (Т.В. Sherer, et al., 2013).

Подкожное введение является не единственным способом введения ротенона при создании моделей паркинсонизма на млекопитающих.

Внутрибрюшинные инъекции, возможно, осуществлять, по следующим, нижеприведенным схемам введения:

- внутрибрюшинное введение ротенона в масляной эмульсии в дозировке 1,5 и 2,5 мг/кг веса в течение 60 дней;
- внутрибрюшинное введение ротенона в растворителе (98 % миглиол 812 N и 2 % ДМСО) в дозировке 2,75–3,0 мг/мл/кг веса животного) в течение 20 дней с начала инъекций (Н.А. Малиновская и др., 2012).

Еще один способ создания ротеноновой модели паркинсонизма реализуется путем использования осмотических помп (Т.В. Sherer et al., 2013) в том числе подкожным вшиванием осмотических мини-помп Millipore, с введением ротенона в течение 30 дней (5-ти недель) с момента имплантации, в концентрации 2–3 мг/кг веса каждого животного. В качестве растворителя используется диметилсульфоксид в полиэтиленгликоле 300 (ПЭГ-300), в соотношении 1 : 1 (Н.А. Малиновская и др., 2012). Использование минипомп является более щадящим вариантом, отличающимся более низкой смертностью животных (высокая смертность – один из недостатков ротеноновой модели). Однако и у него имеется недостаток в виде высокой стоимости (Н.А. Малиновская и др., 2012).

Помимо подкожного и внутрибрюшинного введения ротенона, возможно внутривенное введение ротенона, например, в яремную вену через канюлю, соединенную с мини-помпой (Н.А. Малиновская и др., 2012).

#### **1.4.2. Тревогоподобные состояния и другие нарушения немоторного характера, сопутствующие паркинсонизму**

Клиническая картина паркинсонизма не ограничивается нарушениями моторики. Кроме того, имеет место комплекс симптомов не моторного характера, к которым относятся: тревога, депрессия, астения и когнитивные нарушения (А. Bonito-Oliva et al., 2014; N.N.W. Dissanayaka et al., 2017; J.C.F. Vieira et al., 2019). При этом у 12 % пациентов депрессия может

проявляться до появления основных двигательных нарушений (Е.Ю. Корнюхина и др., 2009). В таблице 1.3 представлены основные виды не моторных нарушений, возникающих при паркинсонизме, а также структуры головного мозга и нейротрансмиттеры, вовлеченные в формирование данных видов нарушений.

**Таблица 1.3** – Основные не моторные симптомы паркинсонизма и, ассоциированные с их возникновением, структуры головного мозга и нейромедиаторы (А.Н.В. Schapira et al., 2017)

Немоторный симптом	Вовлеченные структуры мозга	Вовлеченные нейротрансмиттеры
Гипоосмия	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Обонятельная луковица</li> <li>• Миндалины</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Субстанция Р</li> <li>• Ацетилхолин</li> </ul>
Нарушение восприятия цвета	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Сетчатка</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Дофамин</li> </ul>
Галлюцинации	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Затылочная кора</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Дофамин</li> </ul>
Боль	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Базальные ганглии</li> <li>• Голубое пятно</li> <li>• Зубчатое ядро</li> <li>• Миндалины</li> <li>• Таламус</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Дофамин</li> <li>• Серотонин</li> <li>• Норадреналин</li> </ul>
Тревога	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Базальные ганглии</li> <li>• Голубое пятно</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Дофамин</li> <li>• Норадреналин</li> <li>• Серотонин</li> </ul>
Депрессия	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Лимбическая система</li> <li>• Некоторые области коры</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Дофамин</li> <li>• Норадреналин</li> </ul>
Ранние когнитивные нарушения	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Фронтальная кора</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Дофамин</li> </ul>
Деменция	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Височные доли</li> <li>• Теменные доли</li> <li>• Затылочные доли</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ацетилхолин</li> </ul>
Расстройства сна	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Гипоталамус</li> <li>• Ретикулярная формация</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Гипокретин,</li> <li>• Дофамин,</li> <li>• Серотонин</li> </ul>
Гиперрефлексия мочевого пузыря	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Базальные ганглии</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Дофамин,</li> <li>• Ацетилхолин</li> </ul>



Важным моментом в развитии таких аффективных расстройств является то, что жалобы на симптомы тревоги и депрессии остаются у пациентов, даже после улучшения моторной функции в результате фармакотерапии, либо нейрохирургического лечения. Многие исследования подтверждают, что тревога является не просто следствием исключительно моторных нарушений, но ее наличие отражает нейропатологические изменения. Имеются данные об анксиогенном эффекте леводопы, которая, нарушая деятельность моноаминергических систем, может приводить к появлению аффективных расстройств (K.L. Eskow Jaunarajs et al., 2011).

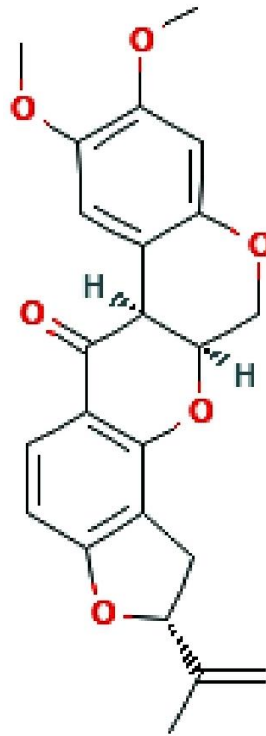
Психические и эмоционально-волевые нарушения проявляются в виде изменений поведения лабораторных животных при моделировании паркинсонизма. Так, мыши, которым вводили 6-гидроксидофамин в полосатое тело, в тесте «открытого поля» демонстрировали увеличение уровня сигмотаксиса (предпочтение периферической зоны возле стен), что свидетельствовало об увеличении уровня тревожности (A. Bonito-Oliva et al., 2014). Крысы с моделью паркинсонизма демонстрировали тревогоподобное поведение в тесте «приподнятого крестообразного лабиринта» и депрессивно-подобное поведение в тесте вынужденного плавания. Данное понятие является аналогом понятия «тревога» у людей. Оно используется в связи с невозможностью полного переноса характеристик человеческих эмоциональных процессов на животных (F.L. Campos et al., 2013). Крысы с ротеноновой моделью паркинсонизма проявляли признаки депрессии в тесте вынужденного плавания (M-S. Shin et al., 2017).

Развитие разных не моторных проявлений паркинсонизма, связывают с вовлечением, при развитии заболевания, ряда некоторых структур мозга: тревоги – базальных ганглиев и голубого пятна (Е.В. Вербицкий, 2013; А.Н.В. Schapira et al., 2017) и нейротрансмиттеров: дофамина и норадреналина; депрессии – лимбической системы, а также определенных областей коры – дофамина и норадреналина; ранних когнитивных нарушений – фронтальной коры и дофамина (А.Н.В. Schapira et al., 2017).

Аффективные психоэмоциональные нарушения при нейродегенеративных заболеваниях вместе с двигательной симптоматикой являются не просто сопутствующими симптомами заболевания, а имеют с ними значительно более сложную взаимосвязь. В результате поиска информации с использованием таких ключевых слов, как: «anxiety», в сочетании с ключевыми словами «motor disorders», «motor impairment» и «motor function», установлено большое количество свидетельств взаимного влияния аффективных нарушений и точности выполнения произвольных движений друг на друга. В литературе имеются данные о наблюдениях, выявивших следующую закономерность: чем выше у пациентов, страдающих паркинсонизмом, уровень тревожности, тем в большей степени у них проявляются тремор и другие моторные нарушения (M.H.N. Chagas et al., 2017).

#### **1.4.3. Патогенез тревогоподобных состояний, возникающих при моделировании паркинсонизма**

Ротенон имеет естественное происхождение (Н.А. Малиновская и др., 2012; National Center for Biotechnology Information, 2019), поскольку получается, преимущественно, путем экстрагирования из корней некоторых видов растений, например, *Derris elliptica* и *Lonchocarpus*. На практике он применяется в основном в качестве инсектицида, а также, для ликвидации некоторых нежелательных видов рыб в искусственных водоемах (National Center for Biotechnology Information, 2019; N. Xiong et al., 2012; S. Heinz et al., 2017; J.R. Richardson et al., 2019). Химическая структура молекулы ротенона представлена на рисунке 1.3. В силу своей гидрофобности, ротенон с легкостью проходит через различные биологические мембраны (Н.А. Малиновская и др., 2012; S. Bhurtel et al., 2019). Благодаря этому ротенон путем диффузии проникает в нейроны и внутри самих клеток – внутрь митохондрий (S.A. Jagmag et al., 2016; S. Bhurtel et al., 2019).



**Рисунок 1.3** – Химическое строение ротенона  
(National Center for Biotechnology Information, 2019)

В патогенезе формирования ротеноновой модели паркинсонизма ключевую роль играют два механизма:

1) ингибирование работы митохондриального комплекса I дыхательной цепи митохондрий (N. Xiong et al., 2012; S.A. Jagmag et al., 2016; S. Bhurtel et al., 2019);

2) способность ротенона вызывать деполимеризацию микротрубочек цитоскелета, необходимых для перемещения внутри клетки различных структур, в том числе митохондрий и везикул с нейромедиаторами (Y. Ren et al., 2012; S.A. Jagmag et al., 2016; N.F. Abdelkader et al., 2017).

Неполный перенос электронов к кислороду, из-за ингибирования ротеноном митохондриального комплекса I, вызывает образование активных форм кислорода, повреждающих дофаминергические нейроны (N. Xiong et al., 2012; S.A. Jagmag et al. 2016; J.R. Richardson et al., 2019). Это характерный механизм вовлечения данного комплекса в развитие нейродегенеративных заболеваний (C. Wirth et al., 2016). Нарушение структуры микротрубочек

цитоскелета, приводит к нарушению везикулярного транспорта и накоплению везикул с нейромедиатором в телах дофаминовых нейронов. Не ферментативное окисление накапливающегося дофамина ведет к оксидативному стрессу и снижению жизнеспособности нейронов черной субстанции (Y. Ren et al., 2012; Д.Н. Воронков и др., 2013). Помимо этого, образующиеся при не ферментативном окислении дофамина свободные радикалы, повреждают сами митохондрии – образуется порочный круг. Таким образом, следствием повреждения структуры микротрубочек является нарушение функций митохондрий по обеспечению клеток энергией (E. Chernivec et al., 2018). Из-за деполимеризации микротрубочек митохондрии теряют способность перемещаться к структурам нейронов, нуждающимся в значительном количестве энергии в определенный момент деятельности. Это приводит к нарушению синаптической передачи, а также процесса упаковки нейромедиатора в везикулы (R.F. McCann, D.A. Ross, 2018). Это ускоряет его не ферментативное окисление, замыкая порочный круг. Воздействие ротенона на микротрубочки, кроме всего, приводит к нарушению процессов деления и слияния митохондрий (E. Chernivec et al., 2018).

Повреждение митохондрий активными формами кислорода нарушает гомеостаз кальция (гиперкальциемия). Это запускает процесс апоптоза дофаминергических нейронов черной субстанции. Кроме того, изменяется характер синаптической пластичности в структурах мозга, вовлеченных в патогенез тревожных расстройств и депрессии (E.L. Streck et al., 2014; J. Allen et al., 2018; R.F. McCann, D.A. Ross, 2018).

Вышеописанные нарушения, вызываемые ротеноном, вносят значительный вклад в развитие сопутствующих не моторных симптомов паркинсонизма в виде аффективных нарушений психоэмоционального характера – тревоги и депрессии. Это нашло свое подтверждение в экспериментальных работах. Животные, подвергнутые воздействию нейротоксина ротенона, демонстрируют увеличение выраженности

паттернов тревогоподобного поведения в тесте «открытое поле» (V. Venkateshgobi et al., 2018). Таким образом, изменения в функционировании митохондриального комплекса I, а также, других комплексов дыхательной цепи митохондрий в нейронах головного мозга, способны играть определенную роль в формировании различных патологических психоэмоциональных состояний (E.L. Streck et al., 2014).

#### **1.4.4. Роль митохондриальной дисфункции в развитии тревогоподобных состояний**

Оксидативный стресс, возникающий в результате митохондриальной дисфункции при паркинсонизме, играет значительную роль в развитии тревожных расстройств.

В осуществлении деятельности нервной системы митохондрии играют большую как по значимости, так и по сложности роль, чем просто обеспечение нервных клеток энергией. В здоровой клетке митохондрии, при помощи микротрубочек цитоскелета, способны перемещаться в различные зоны клетки, ближе к тем структурам, которые в данный момент нуждаются в лучшем обеспечении энергией в виде АТФ. В нервных клетках такими зонами могут быть места роста нейритов. Таким образом, митохондрии могут оказывать влияние на формирование связей между нейронами (R.F. McCann, D.A. Ross, 2018). Другими энергозатратными структурами нейронов являются синапсы, в которых значительное количество энергии используется для упаковки нейромедиаторов в синаптические пузырьки (R.F. McCann, D.A. Ross, 2018), благодаря чему от деятельности митохондрий могут зависеть практически все процессы, связанные с осуществлением синаптической передачи сигнала.

Митохондрии играют важную роль в поддержание кальциевого гомеостаза клетки, аккумулируя в себе больше количество ионов  $Ca^{2+}$ , поглощаемых из цитозоля (Y. Kambe, A. Miyata, 2015). Нарушение обмена

$\text{Ca}^{2+}$ , при дефектах в работе митохондрий, приводит не только к запуску апоптоза, но и способно оказывать влияние на синаптическую пластичность различных структур мозга, изменение работы которых связано с патогенетическими механизмами формирования тревожных расстройств и депрессии (R.F. McCann, D.A. Ross, 2018; E.L. Streck et al., 2018).

Нарушения функционирования митохондрий при паркинсонизме, вне зависимости от причин его вызвавших – эндогенных, обусловленных нарушениями в работе генетического аппарата митохондрий, либо ядерной ДНК; экзогенных, обусловленных воздействием нейротоксинов, либо комплексного взаимодействия различных эндогенных и экзогенных факторов – угнетение работы митохондриального комплекса I, оксидативный стресс, нарушение перемещения митохондрий в клетке, в итоге являются общими звеньями патогенеза не только моторных нарушений, но и формирования патологической тревожности. Таким образом, психоэмоциональные аффективные расстройства при паркинсонизме, в частности – патологическая тревога и депрессия формируются во многом, на том же физическом субстрате, что и моторные нарушения.

### **1.5. Основные принципы профилактики и лечения тревожных расстройств**

Для терапии тревожных расстройств характерен комплексный подход на основе трех основных типов терапевтических методов: биологических (психофармакотерапия и физиотерапия), психологических (психологическая коррекция и психотерапия), социальных (социальная адаптация пациентов) (Т.А. Караваева и др., 2016). В зависимости от характера тревожного расстройства имеются различные нюансы в подходах к его терапии.

Для генерализованного тревожного расстройства основными используемыми препаратами являются анксиолитики, такие, как алпразолам, феназепам, лоразепам и др. (Е.Ю. Абриталин и др., 2018). Другой группой

применяемых препаратов являются селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС), среди которых используются сертралин, пароксетин, флувоксамин, флуоксетин, эсциталопрам, циталопрам (С.Н. Мосолов, П.В. Алфимов, 2015; Т.А. Караваева, и др., 2016; Е.Ю. Абриталин и др., 2018). Важным моментом является способность данных препаратов усиливать тревогу преимущественно в начале лечения, что нередко требует сочетания их с анксиолитиками и снотворными препаратами (Е.Ю. Абриталин и др., 2018). В сочетании с лекарственной терапией могут применяться различные психосоциальные подходы, такие, как когнитивно-поведенческая терапия (С.Т. Taylor et al., 2017; J.К. Carpenter et al., 2018), в том числе, проводимая дистанционно через Интернет (G. Romijn et al., 2019). При смешанном тревожном и депрессивном расстройстве применяют препараты, имеющие анксиолитическое и антидепрессивное действие, например, тианептин, пароксетин, флувоксамин, алпрозолам и др. Так же могут быть назначены снотворные средства, антипсихотики и ноотропные препараты (Е.Ю. Абриталин и др., 2018). Из психотерапевтических методов применяются когнитивно-поведенческая терапия, краткосрочная психодинамическая терапия и релаксационные методы. При тревожно-фобическом расстройстве применяются антидепрессанты различных групп, например, миртазапин, малые антидепрессанты, такие как тразодон и агомелатин; бензодиазепиновые транквилизаторы (клоназепам, альпрозолам); малые нейролептики (сульпирид, алимемазин). Для быстрого воздействия на тревожную и фобическую симптоматику возможно применение не бензодиазепиновых анксиолитиков, таких, как буспирон, этифоксин и др. (Т.А. Караваева и др., 2016). В составе когнитивно-поведенческой терапии различных тревожных расстройств (генерализованного тревожного расстройства, тревожно-фобических и панического расстройств) обычно входят следующие модули: психообразовательный; модуль, направленный на осознание собственной низкой толерантности к неопределенности и на её преодоление; модуль,

направленный на переоценку ценности беспокойства; модуль, направленный на решение проблем; модуль, направленный на преодолении когнитивного избегания и выработку способности переносить неприятные мысли и образы; модуль, направленный на профилактику рецидивов (Т.А. Караваева и др., 2016; M. Robichaud et al., 2019).

В случае резистентности больных с тревожными расстройствами к психофармакотерапии актуальность приобретает поиск и разработка новых немедикаментозных методов терапии тревожных расстройств, например – использование нейрوفيدбека, основанного на методе биологической обратной связи по нейрофизиологическим параметрам (Е.В. Бирюкова, С.Н. Мосолов, 2011). В этом ключе, как немедикаментозный метод терапии тревожных расстройств, интерес может представлять и применение транскраниальной электростимуляции головного мозга.

### **1.6. ТЭС-терапия как метод транскраниальной электростимуляции**

Одним из представляющих интерес решений для коррекции патологической тревожности может стать применение транскраниальной электростимуляции, которая особенно интенсивно развивается в последнюю пару десятилетий (F. Fregni, et al., 2015). Существуют различные методы неинвазивной электрической стимуляции головного мозга, различающиеся по характеру и параметрам используемого тока, способу наложения электродов, целевым структурам и вызываемым ими эффектам – транскраниальная стимуляция постоянным током (tDCS), транскраниальная стимуляция переменным током (tACS) и ТЭС-терапия. Транскраниальная стимуляция постоянным током – Transcranial direct current stimulation (tDCS) основана на пропускании слабого (1–2 мА) постоянного электрического тока через пару электродов, расположенных на коже волосистой части головы.



В зависимости от относительного расположения электродов, данный метод позволяет выполнять стимуляцию, как всего мозга, так и селективную стимуляцию отдельных его долей (A.J. Woods et al., 2016). В основе tDCS лежит подпороговая модуляция потенциалов мембран нейронов (F. Qi et al., 2019), которая позволяет изменять возбудимость участков коры в зависимости от направления прохождения тока через целевые нейроны. При этом, аналогично фармакологическим нейромодуляторам, tDCS не индуцирует активность в сетях нейронов, находящихся в состоянии покоя, однако модулирует спонтанную нейронную активность (A.J. Woods et al., 2016; J.P. Lefaucheur et al., 2017; O. Dennison et al., 2019). Имеются данные экспериментальных исследований, которые демонстрируют более высокий уровень  $\beta$ -эндорфина в плазме крови у пациентов с фибромиалгией, подвергнутых процедуре tDCS (E.M. Khedr et al., 2017; П.П. Поляков, 2018), что связано с участием опиоидергической, моноаминергической и других систем в реализации эффектов данного вида транскраниальной стимуляции (П.П. Поляков, 2018). Также для осуществления транскраниальной электростимуляции возможно использование переменного электрического тока, на чем основана Transcranial alternating current stimulation (tACS). Важным отличием классической tACS от tDCS является то, что в силу переменного характера используемого тока каждый электрод из пары поочередно выступает то в роли анода, то в роли катода (A.J. Woods et al., 2016).

Перспективным немедикаментозным методом коррекции патологических тревожных состояний, в том числе, развивающихся на фоне нейродегенеративных заболеваний, включая паркинсонизм, может стать ТЭС-терапия, разработанная в институте имени И.П. Павлова в 1983 году профессором В.П. Лебедевым и соавторами (V.P. Lebedev, 1997; S. Zaghi et al., 2010; К.Ю. Ретюнский, 2015; С.А. Занин и др., 2017). В отличие от вышеописанных методов, ТЭС-терапия по характеру стимулирующих

сигналов и расположению электродов в наибольшей степени близка к методам, известным на Западе под названиями «Cranial Electrostimulation Therapy» (CET) и «Transcerebral Electrotherapy» (TCET) (B. Guleyupoglu et al., 2013). Однако, в отличие от другого метода – электросна, при пропускании электрического тока через кости черепа, полностью исключается повреждающее воздействие на оптический нерв. При транскраниальной электростимуляции используется фронто-мастоидальное расположение электродов, через которые пропускается электрический ток силой 0,1–0,5 мА, частотой от 30 до 100 Гц (B. Guleyupoglu et al., 2013).

В основе ТЭС-терапии лежит строгое соблюдение особых параметров стимулирующего тока и расположения стимулирующих электродов (V.P. Lebedev, 1997; С.А. Занин и др., 2017), при которых достигается наиболее выраженный анальгетический эффект. Точкой приложения ТЭС-терапии являются стресс-лимитирующие системы мозга. Происходит избирательная стимуляция подкорковых структур, продуцирующих серотонин и эндорфины (С.А. Занин и др., 2017). При используемом в данном методе расположении электродов, электрический ток по ликворным пространствам мозга достигает основных элементов антиноцицептивной системы (АНС), таких, как вентромедиальный гипоталамус, дно IV желудочка, околотоводное серое вещество (V.P. Lebedev, 1997). За счет модуляции работы дофаминергического, холинергического и серотонинергического механизмов оказывается системное стресс-лимитирующее воздействие на нейроиммуноэндокринную регуляцию (А.Х. Каде и др., 2017), причем эффект носит гомеостатический характер (А.И. Трофименко и др., 2014; А.С. Липатова и др., 2018) (таблица 1.4). Важным моментом при проведении экспериментальных исследований влияния ТЭС-терапии является видоспецифичность параметров частоты – для каждого из видов животных, на которых был протестирован данный метод. Имеется достаточно узкий оптимальный диапазон частот, в котором

эффект ТЭС-терапии, в виде усиления продукции эндогенных опиоидных пептидов, максимален (V.P. Lebedev, 1997).

Показана возможность ТЭС-терапии оказывать антиоксидантное действие за счет повышения уровня  $\beta$ -эндорфина, обладающего антиоксидантными свойствами благодаря своей пептидной природе (В.Д. Левичкин и др., 2014).

**Таблица 1.4** – Основные эффекты ТЭС-терапии (на основе материалов А.С. Липатовой, 2019, с дополнениями)

Центральные	Периферические
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Анальгезия</li> <li>• Нормализация вазомоторной регуляции</li> <li>• Купирование абстиненции</li> <li>• Купирование тремора</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ускорение заживления кожных ран</li> <li>• Ускорение заживления стрессорных и токсических язв</li> <li>• Ускорение заживления очагов некроза при инфаркте миокарда</li> <li>• Ускорение регенерации поврежденной нервной ткани</li> <li>• Стимуляция клеточного иммунитета</li> <li>• Противовоспалительный эффект</li> <li>• Антипиретический эффект</li> <li>• Угнетение роста опухолей</li> <li>• Усиление эффекта цитостатиков</li> <li>• Снижение чувствительности кожных рецепторов при воспалении</li> </ul>
Комбинированные	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Противозудный эффект</li> <li>• Противовоспалительный эффект</li> <li>• Антистрессорный эффект</li> </ul>	

Предполагаемая эффективность лечебного воздействия ТЭС-терапии в условиях ротенонового паркинсонизма у крыс может быть связана с её антиоксидантным действием за счет выработки  $\beta$ -эндорфина, а также способности оказывать гомеостатический эффект, модулируя деятельность различных нейромедиаторных систем головного мозга.

## ГЛАВА 2.

### МЕТОДОЛОГИЯ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1. Характеристика экспериментальных животных

Исследования выполнены на белых половозрелых нелинейных самцах крыс с исходной массой тела –  $170 \pm 25$  г. Общий объем выборки – 145 животных. Крысам был обеспечен свободный доступ к воде и пище. Животные находились в условиях естественного освещения при температуре 22–24 °С. Для компенсации изменений уровня естественной освещенности дополнительно могло применяться искусственное освещение. Содержание животных и постановка экспериментов проводились в соответствии с требованиями приказа № 199н МЗ РФ от 01.04.2016 г., «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием лабораторных животных» (1985) и требованиями Женевской конвенции «International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals». Критериями исключения из эксперимента являлись видимые анатомические дефекты и признаки заболеваний.

#### 2.2. Модель тревогоподобного состояния при ротенон-индуцированном паркинсонизме

Для создания модели тревогоподобного состояния использовали нейротоксин растительного происхождения – ротенон. Это обусловлено ранее описанными преимуществами, такими, как возможность системного введения, исключая необходимость применения дорогого стереотаксического оборудования и достаточно точное воспроизведение патогенеза. Кроме того, для данной модели характерно точное воспроизведение симптоматики не только в виде моторных нарушений, но и сопутствующих аффективных расстройств, в частности, наиболее

интересующей в рамках данного экспериментального исследования патологических тревогоподобных состояний.

Субстанцию для инъекции приготавливали путем, растворения порошка ротенона в диметилсульфоксиде. Инъекции выполнялись один раз в сутки по схеме 2,5мг/кг/сут. в течение 28-ми дней, подкожно всем крысам, кроме группы интактных животных. В течение хода всего эксперимента выполнялся мониторинг области инъекций ротенона на наличие кист и иных патологических образований для своевременного предотвращения их образования. В основе использованного способа формирования модели ротенон-индуцированного паркинсонизма у крыс лежат методы, описанные Малиновской (Н.А. Малиновская, 2012).

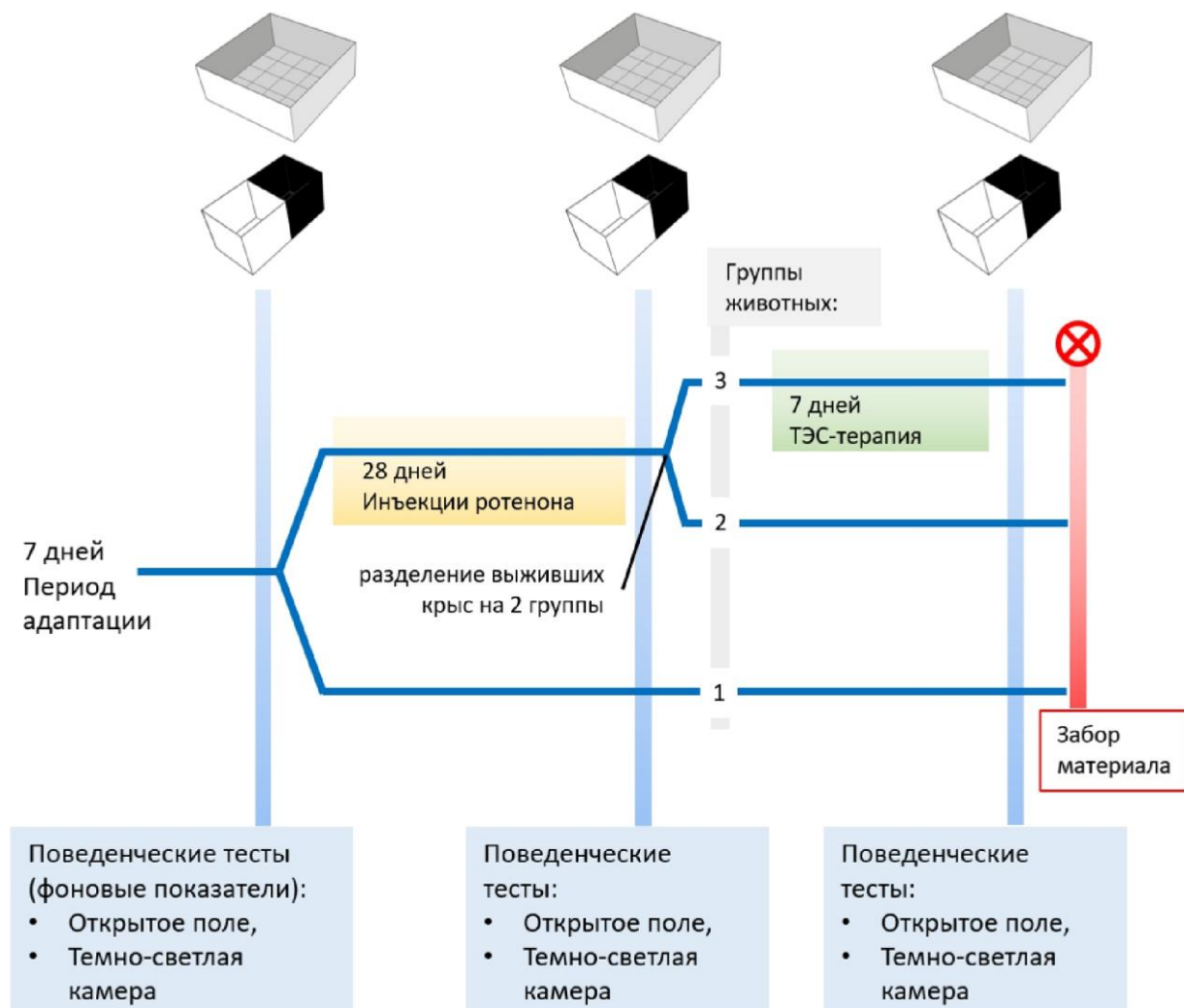
### **2.3. Схема эксперимента**

После недельного периода акклиматизации из 40 крыс была сформирована контрольная группа интактных животных (группа № 1). У остальных крыс формировалась ротеноновая модель паркинсонизма. В процессе формирования модели ротенонового паркинсонизма погибло 25 % животных. Это предусматривается данной методикой формирования паркинсонизма.

Выжившие крысы случайным образом разделялись на две группы по 40 животных: – крысы с экспериментальной моделью паркинсонизма без лечения (группа сравнения) и крысы с экспериментальной моделью паркинсонизма, которым проводили 7-м сеансов ТЭС-терапии (основная группа). Все эксперименты выполнялись в соответствии с требованиями приказа МЗ РФ от 01.04.2016 года № 199 и международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals».

Крысам из группы № 3 в течение 7-ми дней после завершения курса введения ротенона (с 4 по 5 неделю эксперимента) проводили ТЭС-терапию с помощью модифицированного двухпрограммного электростимулятора

«ТРАНСАИР-03» в анальгетическом режиме, в то время как крысы из группы сравнения не подвергались её воздействию, но находились в тех же условиях (рисунок 2.1).



**Рисунок 2.1** – Схема эксперимента. Цифрами обозначены группы животных:

1 – группа контроля; 2 – группы сравнения (не получают ТЭС);

3 – основная (получают 7 сеансов ТЭС)

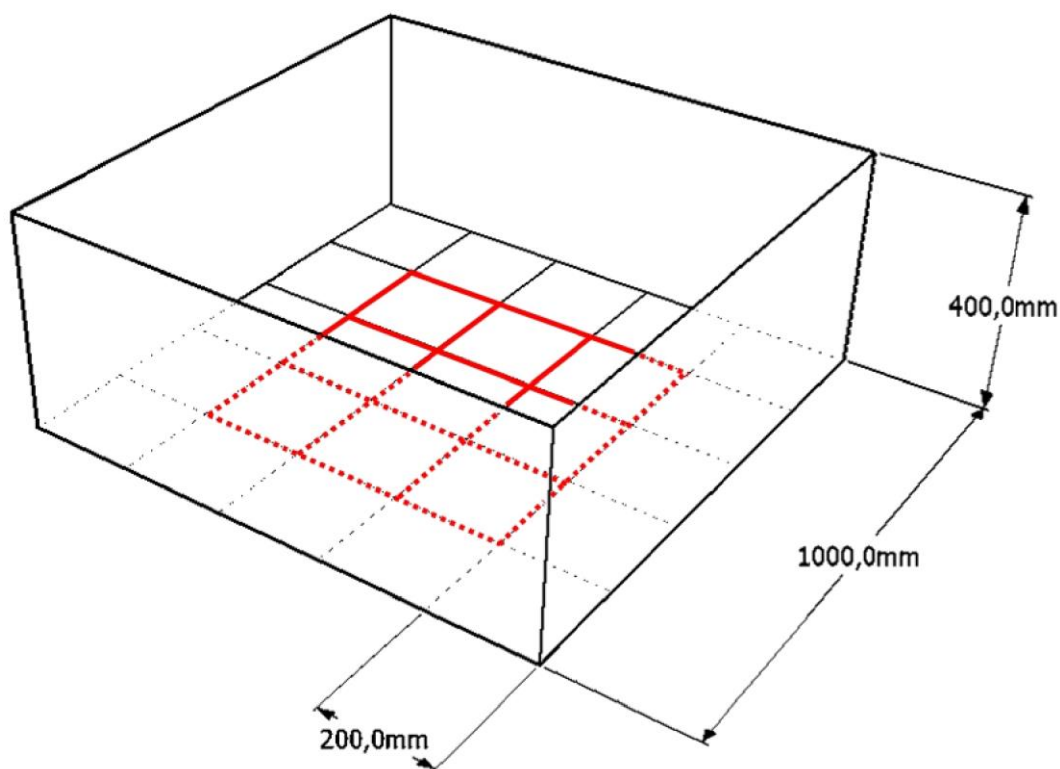
Исходно и на 4-й и 5-й неделях эксперимента крысы проходили поведенческие тесты «открытое поле» и «темно-светлая камера». После прохождения последней серии поведенческих тестов на 5-й неделе эксперимента производился забор материала для иммуногистохимического исследования. Для выполнения данной процедуры животное наркотизировали, используя золетил 0,8 мг на 100 г веса крысы в/м (Virbac,

France), ксиланит 0,8 мг на 100 г веса крысы в/м (ЗАО «НИТА-ФАРМ», Россия). Глубину наркоза верифицировали по угнетению роговичного рефлекса и исчезновению реакции на болевые раздражители.

## 2.4. Оценка тревогоподобного поведения крыс

### 2.4.1. Техника оценки тревогоподобного поведения крыс в тесте «открытое поле»

Для оценки поведения крыс в тесте «Открытое поле» использовалась квадратная арена со стороной 100 см (Y. Yu et al., 2020) (рисунок 2.2).



**Рисунок 2.2** – Конструкция установки «открытое поле».

Красным цветом выделена центральная зона

Периметр арены был ограничен стенками, препятствующими выходу животных за её пределы, высотой 40 см. Дно арены было разделено специальной разметкой на 25 равных квадратов со стороной 20 см каждый. При разделении поля на зоны, обычно выделяется две области –

периферическая зона, представленная квадратами, граничащими непосредственно со стенками установки, и центральная зона из квадратов, которые ни одной из своих сторон не граничат с бортами установки (M.L. Seibenhener, M.C. Wooten, 2015), в данном исследовании 16 квадратов дна установки, граничащих с бортами конструкции образовывали периферическую зону, а 9 центральных квадратов центральную – центральную, размером 60 × 60 см (Y. Yu et al., 2020).

Для проведения теста «Открытое поле» могут использоваться различные варианты цветового исполнения установки, обычно это белый цвет, хотя существуют варианты серого и черного цветов (P.C. Hart et al., 2016). Дно и борта использованной в данной работе установки имели серый цвет. По имеющимся экспериментальным данным, при использовании установки «открытое поле» со стенками и дном серого цвета, у животных развивается состояние, близкое к смешанному тревожно-фобическому расстройству. При этом в степени проявления данного состояния между животными различных в своей прогностической устойчивости к психоэмоциональному стрессу генетически-детерминированных групп не наблюдалось существенных различий (А.А. Пермяков и др., 2013). Данная особенность делает выбор серого цвета установки «открытое поле» оптимальным для проводимого исследования, поскольку нивелирует естественные генетические различия, которые могут иметься в популяции, позволяя оценить влияние именно исследуемых факторов на поведенческие паттерны крыс.

В тесте «открытое поле» оценивались следующие параметры:

- Общий уровень двигательной активности.
- Уровень двигательной активности в центральной зоне арены.
- Уровень двигательной активности в периферической зоне арены.
- Уровень вертикальной активности по количеству периферических стоек – с опорой на боковые стенки установки (Е.В. Курьянова и др., 2013).
- Уровень вертикальной активности по количеству центральных стоек – без опоры на боковые стенки установки (Е.В. Курьянова и др., 2013).



Мерой уровня горизонтальной двигательной активности во всей установке, или в определённой зоне арены являлось количество пройденных каждым животным квадратов разметки (по всей арене, или в определенной её зоне, соответственно) (А.В. Амикишиева, 2009; В.Н. Каркищенко и др., 2012; N. Sestakova et al, 2013; А.Х. Каде и др., 2018). Вертикальная активность оценивалась путем подсчета количества принятия животным вертикального положения путем вставания на задние лапы с отрывом от поверхности арены передних конечностей. Оценивался как общий, суммарный уровень вертикальной активности, так и отдельно показатель каждого из двух её видов: с опорой и без опоры передними лапами на боковые стенки установки (Е.В. Курьянова и др., 2013).

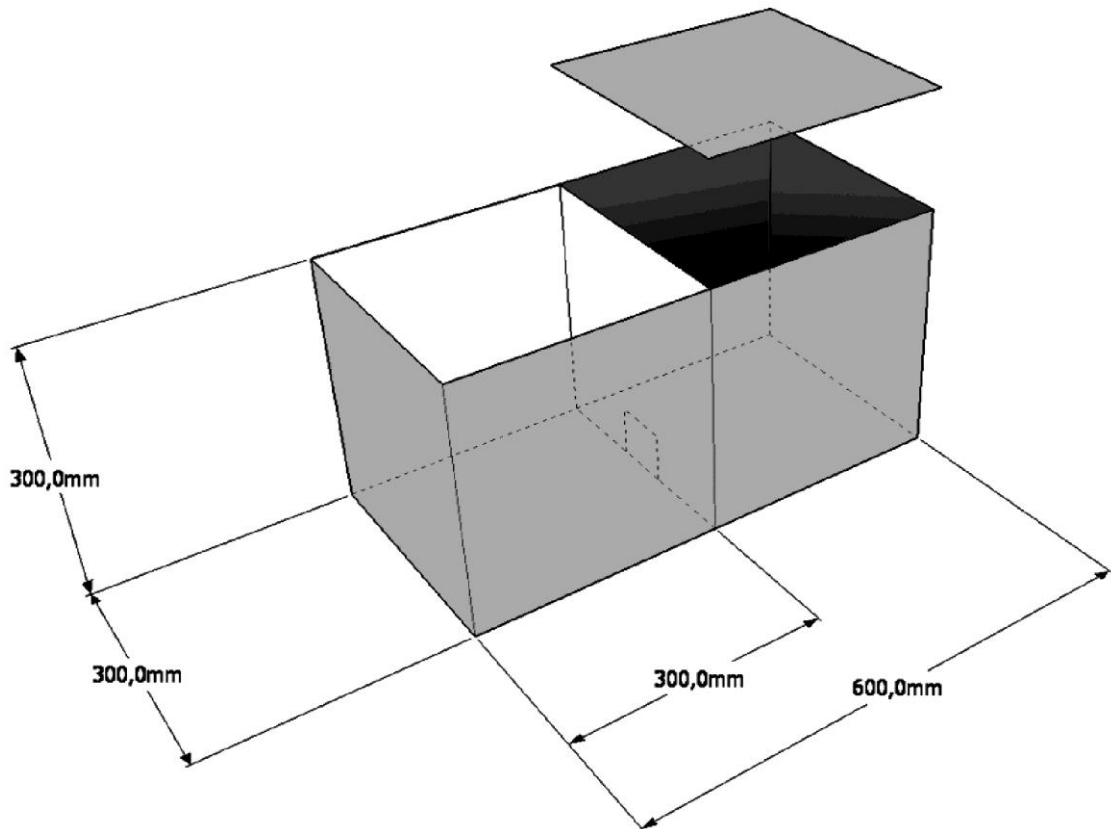
Для проведения теста каждая исследуемая крыса помещалась в центр установки. Время видео-регистрации поведения животного составляло 5 минут, выполнялось цифровой видеокамерой. После процедуры тестирования каждого животного дно и борта установки очищались 70 % этанолом (Y. Yu et al., 2020).

#### **2.4.2. Техника оценки тревогоподобного поведения крыс в тесте «темно-светлая камера»**

Установка, использовавшаяся для проведения теста «Темно-светлая камера», представляла собой емкость  $60 \times 30 \times 30$  см, разделенную перегородкой на 2 равных отсека  $30 \times 30 \times 30$  см (P.C. Hart et al., 2016) (рисунок 2.3). В перегородке у дна установки имелось отверстие шириной 7 см, которое позволяет животным переходить между отсеками (T. Serchov et al., 2016; А.Х. Каде и др., 2018).

Хотя исторически, у разработанной Кроули установки один отсек имел стенки черного цвета («темный отсек»), а другой – прозрачные («светлый отсек») (J. Crawley, F.K. Goodwin, 1980; T. Serchov et al., 2016), в данной работе использовался вариант, в котором «светлый отсек» имел непрозрачные стенки белого цвета. Данное техническое решение обусловлено тем, что выполнение

теста на установке с прозрачными стенками регистрирует тревогу, вызванную врожденным страхом открытых пространств (Т. Serchov et al., 2016), дублируя тем самым принципы использованного в данной работе метода «открытое поле», в то время, как вариант с непрозрачными стенками более селективен, позволяя регистрировать именно тревогу, индуцируемую высоким уровнем освещения отсека (Т. Serchov et al., 2016).



**Рисунок 2.3** – Конструкция установки «темно-светлая камера»

Темный отсек установки закрывался сверху крышкой, в то время как светлый отсек был ярко освещен.

Время тестирования каждого животного составляло 5 минут. Крыса помещалась в светлую половину установки, и выполнялась видеофиксация её поведения. После каждого животного выполнялась очистка стенок установки для ликвидации запаха. Выполнялась оценка времени, проведенного в каждом отсеке установки светлый (А.В. Амикишиева, 2009; Т. Serchov et al., 2016; Р.С. Hart et al., 2016). Сокращение времени, проведенного в светлом

отсеке, расценивалось, как увеличение выраженности тревогоподобного поведения (А.Х. Каде и др., 2018; Y. Bouter et al., 2019; N. Pitsikas et al., 2019).

## 2.5. Оценка моторного дефицита у крыс

Чтобы убедиться в успешности формирования модели ротенон-индуцированного паркинсонизма у экспериментальных животных, выполнялась оценка выраженности моторной симптоматики паркинсонизма.

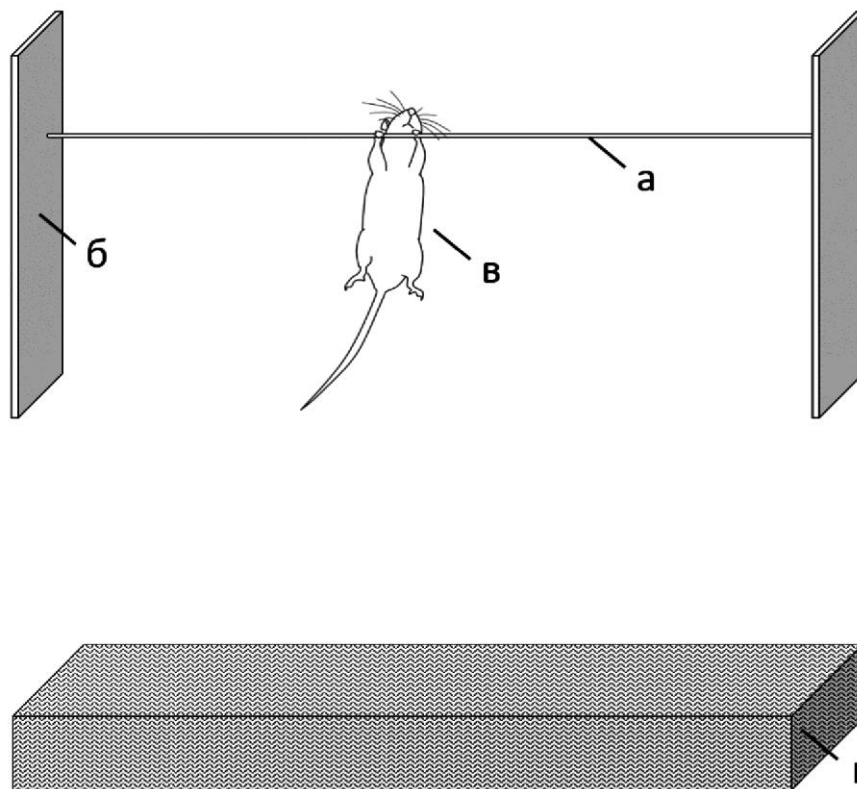
Для этого путем визуального осмотра каждого животного оценивались следующие группы признаков: основные (гипо-, бради- и олигокинезия, неустойчивость походки, постуральная нестабильность) и дополнительные (тремор, ригидность мышц, нарушение равновесия) признаки паркинсонизма. Для их оценки использовалась специальная 3-балльная шкала (Н.А. Малиновская и др., 2012) (таблица 2.1). Также выполнялась оценка суммарной выраженности данных признаков, в результате которой каждое животное могло получить от 1 до 18 баллов.

**Таблица 2.1** – Шкала оценки признаков паркинсонизма (Н.А. Малиновская и др., 2012)

Симптомы	0б	1б	2б	3б
Олигокинезия	Двигательные расстройства отсутствуют	Слабо выраженная олигокинезия	Умеренно выраженная олигокинезия	Резко выраженная олигокинезия
Постуральная нестабильность	Постуральная нестабильность отсутствует	Слабо выраженная постуральная нестабильность	Умеренно выраженная постуральная нестабильность	Резко выраженная постуральная нестабильность
Неустойчивость походки	Неустойчивость походки отсутствует	Слабо выраженная неустойчивость походки	Умеренно выраженная неустойчивость походки	Резко выраженная неустойчивость походки
Тремор покоя	Тремор покоя отсутствует	Слабо выраженный тремор покоя	Умеренно выраженный тремор покоя	Резко выраженный тремор покоя

## 2.6. Тест «вис на горизонтальной перекладине»

Для проведения теста «вис на горизонтальной перекладине» (Hanging wire test, wire hang test) использовалась установка, представляющая собой конструкцию из специальной рамы, в которой зафиксирована горизонтально-натянутая стальная проволока длиной 90 см и диаметром 3 мм. Проволока натянута на высоте 60 см, под конструкцией располагается слой поролона для предотвращения травмирования животных при их падении (О.Е. Adebisi et al., 2016; В. Jansone et al., 2016). По бокам проволоочная перекладина была ограничена двумя специальными экранами, не дающими животным добраться до фиксирующей рамки и покинуть установку. Схема установки представлена на рисунке 2.4.



**Рисунок 2.4** – Схема выполнения теста «вис на горизонтальной перекладине»:  
 а – стальная проволока; б – экраны, предотвращающие покидание установки крысой;  
 в – крыса в процессе тестирования; г – поролон для защиты падающих животных  
 от травматизации

Для выполнения теста испытуемое животное помещалось передними лапами в центр проволочной перекладины. Как только крыса хваталась за перекладину, её отпускали и засекали время удержания её на перекладине до момента падения на подстеленный снизу поролон. Если время виса превышало 120 секунд, крысу снимали с перекладины и помещали в домашнюю клетку, записывая полученный результат как 120 с. Одна процедура тестирования включала в себя 3 повторения для каждой крысы с перерывом 3 минуты, фиксировался наибольший результат (B. Jansone et al., 2016).

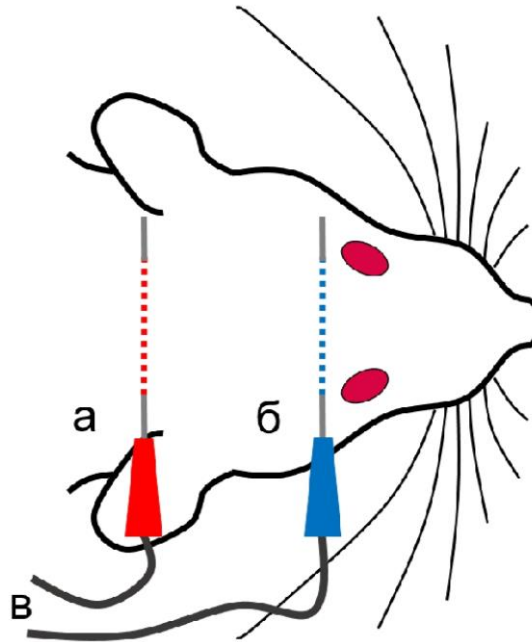
## 2.7. Методика транскраниальной электростимуляции

Крысам из группы № 3 в течение 7-ми дней, после завершения курса введения ротенона (с 4-ой по 5-ую неделю эксперимента), проводили ТЭС-терапию с помощью модифицированного двухпрограммного электростимулятора «ТРАНСАИР-03» в анальгетическом режиме, используемые параметры и характеристики тока стимуляции приведены в таблице 2.2.

**Таблица 2.2** – Характеристики тока и прочие параметры стимуляции

Параметр	Характеристика
Частота тока стимуляции	$70 \pm 2$ Гц
Длительность импульса	$3,75 \pm 0,25$ мс
Сила тока	2,0-2,6 мА
Расположение электродов	фронтально-мастоидальное
Продолжительность сеанса	30 минут (продолжительность первого сеанса – 15 минут для мягкой адаптации животных к процедуре)

Для выполнения транскраниальной электростимуляции каждой крысе перед сеансом стимуляции устанавливали одноразовые подкожные электроды из нержавеющей стали. Над глазницами, в области лба – двоянный катод, позади ушных раковин – двоянный анод, согласно схеме, приведенной на рисунке 2.5.



**Рисунок 2.5** – Схема расположения стимулирующих электродов при проведении сеансов ТЭС-терапии: а – анод; б – катод; в – провода, соединяющие электроды с электростимулятором «ТРАНСАИР-03» (пунктиром обозначены участки электродов, расположенные под кожей)

Первый сеанс ТЭС-терапии имел 15-минутную продолжительность с целью обеспечения мягкой адаптации животных к процедуре, последующие сеансы имели стандартную для метода ТЭС-терапии продолжительность в 30 минут. Подключение электростимулятора к электродам осуществлялось при помощи клемм-крокодилов. Нарастивание силы тока до целевых значений осуществлялось постепенно с постоянным мониторингом состояния каждого животного. Манипуляции, связанные с установкой стимулирующих электродов, и процедура транскраниальной электростимуляции выполнялись под комбинированным инъекционным наркозом: «Золетил» (Virbac Sante Animale, Франция) + «Ксиланит» (ООО «НИТА-ФАРМ», г. Саратов) (П.П. Поляков, 2018; А.С. Липатова, 2019). Для исключения искажения результатов эксперимента влиянием наркоза и нахождения электродов в тканях, крысы группы сравнения так же вводились в наркоз, как и крысы основной группы и им по такой же схеме устанавливались одноразовые подкожные электроды на время, равное времени стимуляции, как и у крыс основной группы, только без подключения к стимулятору.

## **2.8. Иммуногистохимический анализ содержания тирозин-гидроксилазы в нейронах черной субстанции**

После эвтаназии указать как, крысы подвергались декапитации. С помощью ножниц удалялись мягкие ткани головы, при помощи бормашины вскрывалась черепная коробка, головной мозг быстро извлекался и моментально помещался в цинк-формальдегидный фиксатор.

Ткани мозга подвергались последовательной фиксации иммерсионным методом в цинк-формальдегидном фиксаторе, дегидратации и заключению в парафин. Срезы (5 мкм) изготавливались посредством ротационного микротомата и наносились на стекла с адгезионным покрытием («МиниМед», Россия), после чего подвергались процессам депарафинизации и регидратации.

Идентификация компактной части черной субстанции производилась по стереотаксическим атласам мозга крысы, в качестве ориентира использовался уровень, удаленный на 4,8 мм от брегмы. После блокирования эндогенной пероксидазной активности, температурного восстановления эпитопа в цитратном буфере (pH 6,0) и подавления неспецифической иммунореактивности, срезы головного мозга инкубировались в течение 1 часа при температуре 37 °С с первичными поликлональными кроличьими антителами против фермента тирозингидроксилазы (1 : 100, PAB438Ra01, Cloud-Clone, Китай). Детекция белка интереса производилась при помощи стрептавидин-биотиновой системы с использованием набора IHC Support (IS086, Cloud-Clone, Китай) по стандартному протоколу, предоставляемому производителем набора. Интенсивность иммуноокрашивания на фермент тирозингидроксилазу оценивалась при помощи микроскопа с камерой Meiji (Meiji Techno, Япония).

Морфометрический анализ полученных изображений выполнялся при помощи программного обеспечения с открытым исходным кодом ImageJ 1.52p (Rasband W.S., ImageJ U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, США). Подсчет иммунореактивных клеток черной субстанции

выполнялся в полуавтоматическом режиме с использованием инструмента «Multi-point Tool» (T. Ferreira, W. Rasband, 2012; G. Costa et al., 2018).

### **2.9. Методика выполнения забора крови у крыс**

Забор крови у крыс всех групп осуществлялся на 5-й неделе эксперимента. За 12 часов до начала процедуры забора крови из домашних клеток крыс удалялись кормушки с кормом. Доступ к воде оставался без ограничений. Крысы погружались в терминальный наркоз (S. Parasuraman et al., 2010). Для наркотизации животных использовалась комбинация препаратов «Телазол» (тилетамина гидрохлорид и золазепам гидрохлорид) (Virbac Sante Animale, Франция) и «Ксиланит» (ксилазина гидрохлорид) (ООО «НИТА-ФАРМ», г. Саратов). Верифицировался наркоз по угнетению роговичного рефлекса и исчезновению реакции на болевые (укол лапы) раздражители (А.И. Трофименко и др., 2014; А.С. Липатова и др., 2015). После получения доступа к содержимому грудной клетки осуществлялась пункция сердца 10 мл одноразовым шприцом. Поршень шприца оттягивался медленно для предотвращения коллапса сердца в процессе выполнения процедуры забора крови (S. Parasuraman et al., 2010). Кровь из шприца переливалась в вакуумные пробирки с ЭДТА (Ningbo Greetmed Medical Instruments Co., Ltd., Китай), и центрифугировалась. Полученная плазма хранилась в криопробирках при температуре  $-40^{\circ}\text{C}$ .

### **2.10. Методика иммуноферментного анализа содержания гормонов и нейромедиаторов (кортикостерона, дофамина, бета-эндорфина, серотонина) в плазме крови крыс**

Количественное определение гормонов и нейромедиаторов (кортизола, дофамина, бета-эндорфина, серотонина) в плазме крови крыс проводили иммуноферментным методом с помощью наборов Cloud-Clone Corp. (Китай).



Наборы представляют собой комплекты, основными реагентами которых являются моноклональные антитела к гормонам (или нейромедиаторам), сорбированные на поверхности лунок разборного полистирольного планшета, конъюгаты поликлональных антител с биотином и калибровочные образцы, содержащие гормоны или нейромедиаторы в известных концентрациях.

На первой стадии анализа исследуемые и контрольные образцы взаимодействовали в лунках с конъюгатом № 1 (гормоны или нейромедиаторы ковалентно ассоциированными с биотином). В результате конкурентного ингибирования имеющиеся в образцах гормоны или нейромедиаторы пропорционально их концентрации мешали связыванию биотинизированных гормонов конъюгата № 1 с сорбированными антителами в лунках. Не связавшийся материал удаляли отмывкой фосфатно-солевым буферным раствором с твином. На второй стадии связавшийся конъюгат № 1 взаимодействует при инкубации с конъюгатом № 2 (стрептавидин с пероксидазой хрена). После второй отмывки количество связавшегося конъюгата № 2 определяли цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы хрена – перекиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Реакцию останавливали добавлением раствора стоп-реагента – 0,1 N HCl и измеряли оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 492 нм / 620 нм. Интенсивность окрашивания раствора в лунке обратно пропорциональна количеству содержащихся в образце гормонов или нейромедиаторов.

Все этапы реакции проходили в термостатируемых условиях на шейкерах-инкубаторах ST-3 (Латвия). Учет реакции, построение калибровочных графиков и определение концентрации гормонов и нейромедиаторов проводили на фотометре вертикального сканирования ANTHOS 2010 (Великобритания) с помощью программного обеспечения ADAP Software, версия 2.0.

## 2.11. Статистическая обработка данных

Статистическая обработка полученных в ходе экспериментального исследования результатов, проводилась с помощью программного обеспечения «MS Excel 2013» (Microsoft Inc., США) и программных пакетов для выполнения статистического анализа и визуализации данных «Statistica 12» (StatSoft Inc., США) и «GraphPad Prism 6.01» (GraphPad Software Inc., США). Гипотеза о типе распределения количественных признаков проверялась посредством критерия Шапиро-Уилка. Поскольку распределение полученных значений в исследуемых группах отличалось от нормального, для их дальнейшей обработки использовались методы непараметрической статистики.

Данные представлялись в виде медианы, нижнего (25 %) и верхнего (75 %) квартилей (Me(Q1–Q3)). Для парного сравнения показателей двух независимых групп использовался непараметрический критерий Манна-Уитни (MW-test). Для оценки статистически значимых различий при парных сравнениях зависимых групп был использован непараметрический критерий Вилкоксона (W-test). Изменения считались статистически значимыми при  $p < 0,05$  (Н.В. Трухачева, 2013).

### ГЛАВА 3.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Показатели тревогоподобного поведения у крыс в тесте «темно-светлая камера» при моделировании ротенон-индуцированного паркинсонизма

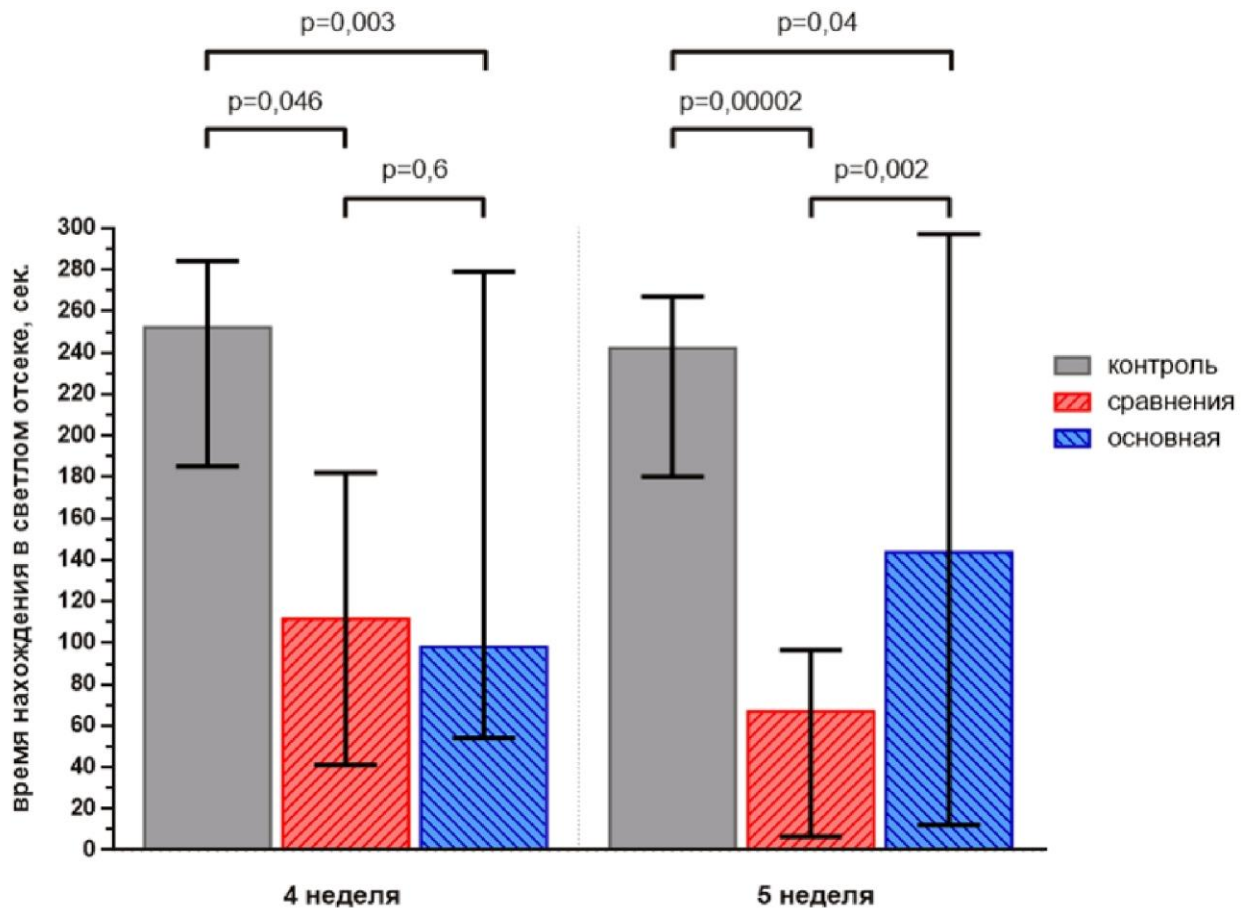
Показатели выраженности тревогоподобного поведения крыс в тесте «темно-светлая камера» представлены в таблице 3.1 и на рисунке 3.1

**Таблица 3.1** – Время, проведенное в светлом отсеке установки «темно-светлая камера» на 4-й и 5-й неделях эксперимента крысами разных групп, Ме (Q1–Q3), сек

Неделя эксперимента \ Группа	Контрольная группа (интактные крысы)	Группа сравнения (без ТЭС-терапии)	Основная группа (с ТЭС-терапией)
4-я неделя эксперимента	252 (185–284)	111,5 (41–182)	98 (54–279)
5-я неделя эксперимента	242 (180–267)	67 (6,5–96,5)	143,5 (12–297)

Как видно из таблицы, на 4-й неделе между группами отсутствовали статистически значимые различия во времени, проведенном в светлом отсеке установки (MW-test,  $p = 0,6$ ). При этом время, проведенное крысами группы сравнения и основной группы, было статистически значимо ниже (MW-test,  $p = 0,046$  и  $p = 0,003$  соответственно), чем у крыс из группы контроля. На 5-й неделе, после прохождения крысами из группы № 3 недельного курса ТЭС-терапии, время, проведенное в светлом отсеке крысами из группы № 3, было статистически значимо (MW-test,  $p = 0,002$ ) выше, чем у крыс из группы № 2 в 2,2 раза, что можно трактовать как снижение выраженности тревогоподобного поведения. При этом у крыс из группы сравнения, величина времени, проведенного в светлом отсеке, была статистически значимо (MW-test,  $p = 0,00002$ ) ниже, чем у крыс из группы контроля. У крыс

из основной группы, несмотря на меньшее значение медианы времени, проведенного в светлом отсеке, чем у крыс из контрольной группы, не имелось статистически значимых различий (MW-test,  $p = 0,044$ ).



**Рисунок 3.1** – Время, проведенное в светлом отсеке установки «темно-светлая камера» на 4-й и 5-й неделях эксперимента крысами разных групп, Me(Q1–Q3), сек

Из данной таблицы также видно, что у крыс, не получавших ТЭС-терапию с 4-й по 5-ю недели эксперимента, статистически значимо в 1,7 раз снизилось время, проведенное в светлом отсеке, что говорит об увеличении выраженности тревогоподобного поведения. У крыс из группы № 3, прошедших 7-дневный курс ТЭС-терапии, наблюдался статистически значимый рост времени, проведенного в светлой камере, в 1,5 раза, что свидетельствует о снижении выраженности тревогоподобного поведения у крыс данной группы.

### 3.2. Показатели тревогоподобного поведения у крыс в тесте «открытое поле» при моделировании ротенон-индуцированного паркинсонизма

#### 3.2.1. Горизонтальная активность

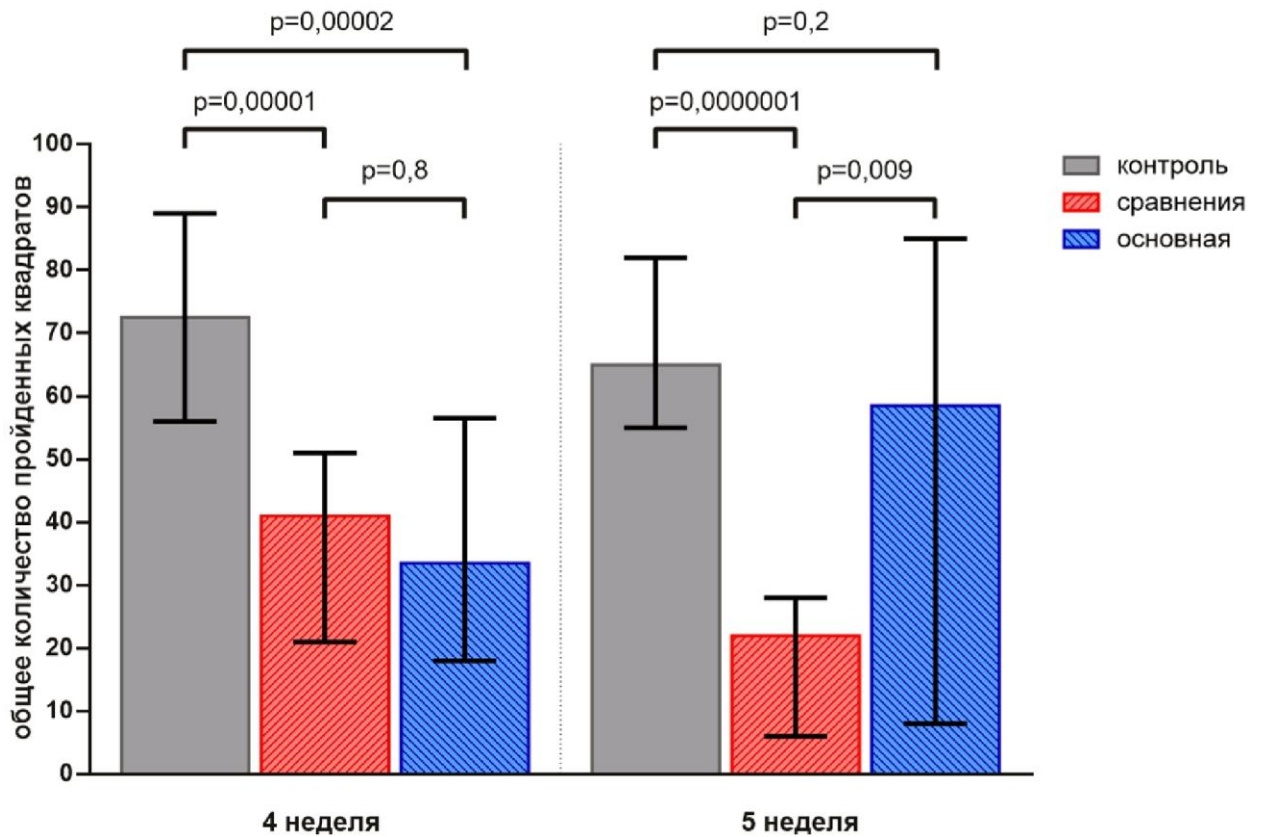
**Таблица 3.2** – Общий уровень горизонтальной активности в тесте «открытое поле» на 4-й и 5-й неделях эксперимента крысами разных групп, Me(Q1–Q3)

Неделя эксперимента \ Группа	Контрольная группа (интактные крысы)	Группа сравнения (без ТЭС-терапии)	Основная группа (с ТЭС-терапией)
4-я неделя эксперимента	72,5 (56–89)	41 (21–51)	33,5 (18–56,5)
5-я неделя эксперимента	65 (55–82)	22 (6–28)	58,5 (8–85)

Примечание: оценивался по количеству пересеченных квадратов.

Как видно из таблицы 3.2 и рисунка 3.2 на 4-й неделе между основной группой и группой сравнения отсутствовали статистически значимые различия (MW-test,  $p = 0,8$ ) в уровне общей горизонтальной двигательной активности в тесте «открытое поле». На 5-й неделе, после прохождения крысами из основной группы недельного курса ТЭС-терапии, количество пересеченных квадратов на арене установки теста «открытое поле» крысами из этой группы было статистически значимо выше (MW-test,  $p = 0,009$ ), чем у крыс из группы сравнения в 2,63 раза, что можно трактовать как увеличение уровня исследовательской активности и, следовательно, уменьшение уровня тревожности. В то время как у крыс из группы сравнения уровень горизонтальной активности статистически значимо (W-test,  $p = 0,001$ ) упал с 41,0 до 22 секторов – в 1,86 раза, у крыс основной группы наблюдалась тенденция к увеличению уровня горизонтальной активности в 1,76 раз – с 33 до 58 квадратов, что свидетельствует о росте исследовательской активности крыс.

В таблице 3.3 отображены данные об уровне горизонтальной активности крыс группы сравнения и основной группы в центральной зоне арены.



**Рисунок 3.2** – Уровни общей горизонтальной активности на 4-й и 5-й неделях эксперимента у крыс разных групп, количество пройденных квадратов, Me(Q1–Q3)

**Таблица 3.3** – Уровень горизонтальной активности в центральной зоне арены на 4-й и 5-й неделях эксперимента крысами разных групп в тесте «открытое поле», Me(Q1–Q3), сек

Неделя эксперимента / Группа	Количество секторов, пройденных в центральной части арены в тесте «открытое поле» крысами группы № 2, Me (Q1–Q3), сек	Количество секторов, пройденных в центральной части арены в тесте «открытое поле» крысами группы № 3, Me (Q1–Q3), сек	p-value (MW-test)
4-я неделя эксперимента	5,5 (2–9)	4,5 (2–8,5)	0,546
5-я неделя эксперимента	2 (2–2)	3 (2–6)	0,037

Как видно из таблицы 3.3, на 4-й неделе между группами сравнения и основной в уровне исследовательской активности в центре арены отсутствовали статистически значимые различия (MW-test,  $p = 0,546$ ). Хотя

на 5-й неделе у крыс обеих групп произошло падение уровня двигательной активности в центральной зоне арены, между группами появились статистически значимые (MW-test,  $p = 0,037$ ) различия – у крыс из основной группы количество пройденных секторов в центре арены выше, чем у крыс из группы сравнения в 1,5 раза. Это свидетельствует об уменьшении уровня тревожности у крыс из основной группы.

### 3.2.2. Вертикальная активность

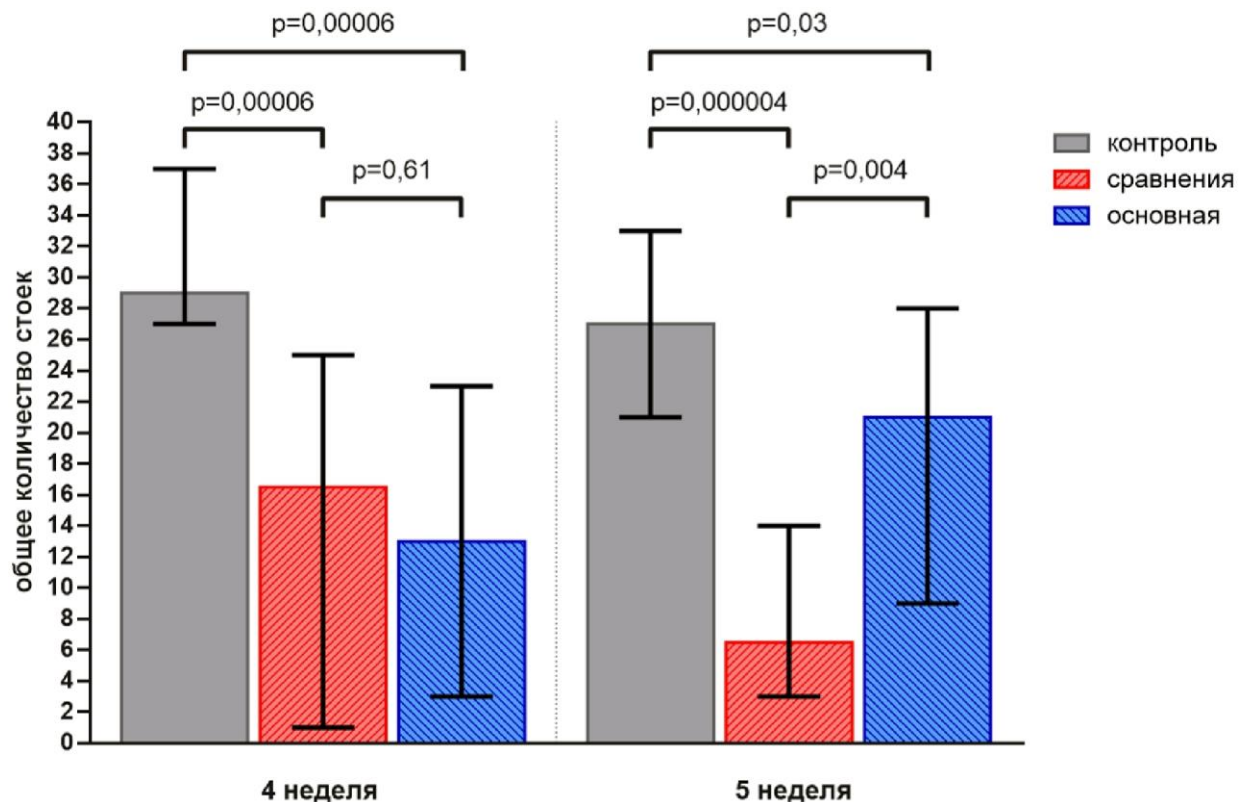
По показателям общего уровня вертикальной активности на всей площади установки «открытое поле» крысы основной группы и группы сравнения, после хронического системного введения ротенона демонстрировали меньший уровень её, чем в группе контроля. Так, у крыс группы сравнения значение медианы количества стоек на 4-й неделе было статистически значимо (MW-test,  $p = 0,00006$ ) ниже на 43,1 %, чем у крыс контрольной группы. У крыс основной группы значение данного показателя было статистически значимо (MW-test,  $p = 0,00006$ ) ниже, чем у группы контроля на 55,17 %. В таблице 3.4 и на рисунке 3.3 представлены результаты анализа вертикальной активности крыс основной группы и группы сравнения в тесте «открытое поле». При этом статистически значимая разница показателей общего уровня вертикальной активности между крысами основной группы и группы сравнения на 4-й неделе эксперимента отсутствовала (MW-test,  $p = 0,61$ ).

На 5-й неделе крысы группы сравнения и основной группы так же демонстрировали статистически значимо (MW-test,  $p = 0,000004$  и  $p = 0,03$  соответственно) меньшие уровни общей вертикальной активности в сравнении с крысами контрольной группы. У крыс группы сравнения общая вертикальная активность в сравнении с контролем была статистически значимо ниже на 75,93 %, чем у контрольной группы. У животных основной группы – статистически значимо меньше на 20,37 %.

**Таблица 3.4** – Общая вертикальная активность крыс разных групп в тесте «открытое поле», Me(Q1–Q3), количество стоек на задних конечностях по всей площади арены установки

Неделя эксперимента \ Группа	Контрольная группа (интактные крысы)	Группа сравнения (без ТЭС-терапии)	Основная группа (с ТЭС-терапией)
4-я неделя	29 (27–37)	16,5 (1–25) *	13 (3–23) **, #
5-я неделя	27 (21–33)	6,5 (3–14) ***	21,5 (9–28) ****, ##

Примечание: \* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,00006$ ) отличие показателя у группы сравнения на 4-й неделе от показателя группы контроля; \*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,00006$ ) отличие показателя крыс основной группы на 4-й неделе от показателя группы контроля; \*\*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,000004$ ) отличие показателя у группы сравнения на 5-й неделе от показателя группы контроля; \*\*\*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,03$ ) отличие показателя крыс основной группы на 5-й неделе от показателя группы контроля; # – отсутствие статистически значимых различий (MW-test,  $p = 0,61$ ) между показателями группы сравнения и основной группы на 4-й неделе эксперимента; ## – статистически значимая (MW-test,  $p = 0,004$ ) разница между показателями группы сравнения и основной группы на 5-й неделе эксперимента.



**Рисунок 3.3** – Уровни общей вертикальной активности у крыс разных групп в тесте «открытое поле»: количество стоек с опорой и без, Me(Q1–Q3)



При этом между группой сравнения и основной группой также имелась статистически значимая (MW-test,  $p = 0,004$ ) разница в величине данного показателя. Крысы из основной группы, получавшие ТЭС-терапию после ротеноновой интоксикации, имели на 230,77 % статистически значимое более высокое значение медианы уровня общей горизонтальной активности, чем крысы из группы сравнения, не получавшие ТЭС-терапию.

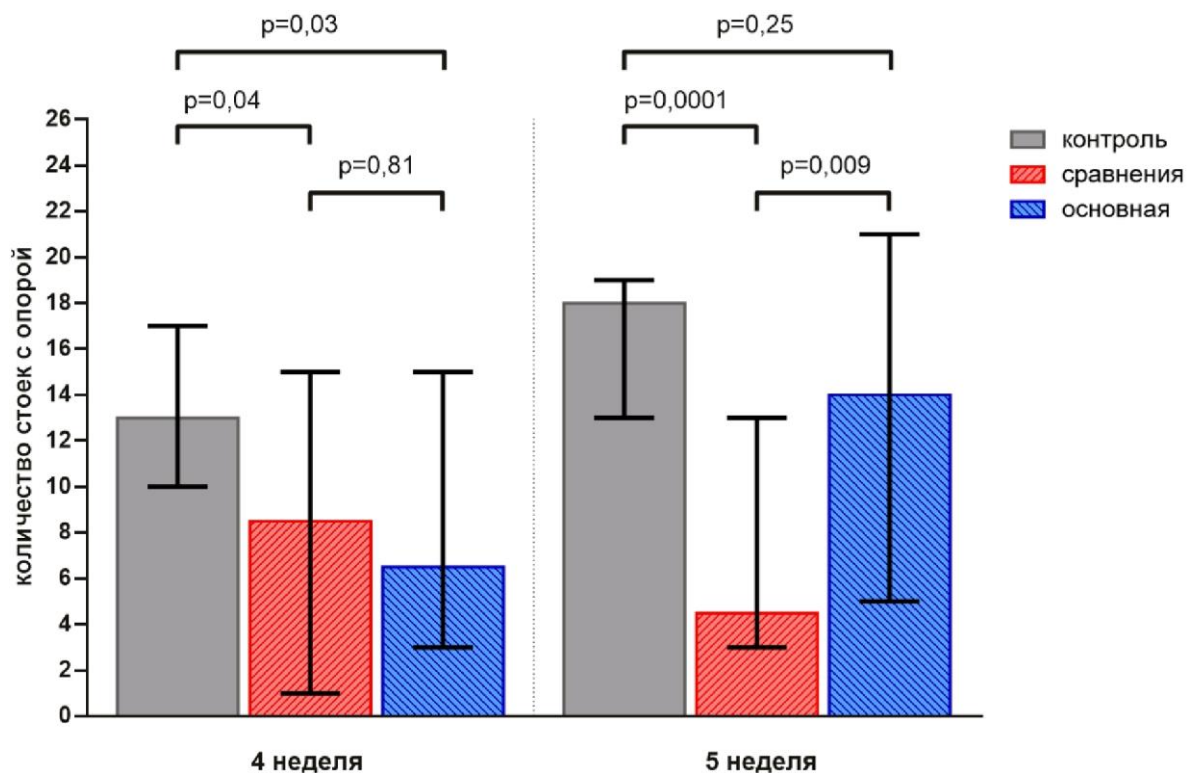
В таблице 3.5 и на рисунке 3.4 представлены результаты анализа периферической (количество стоек с опорой на боковые стенки установки) вертикальной активности крыс различных групп в тесте «открытое поле». По данному показателю крысы группы сравнения и основной группы на 4-й неделе эксперимента, после хронического системного введения ротенона, демонстрируют статистически значимо (MW-test,  $p = 0,04$  и  $p = 0,03$ ) меньшие уровни, чем в крысы группы контроля на 34,62 % и 53,85 % соответственно. При этом статистически значимая разница между показателями животных основной группы и группы сравнения на 4-й неделе эксперимента отсутствовала (MW-test,  $p = 0,81$ ).

**Таблица 3.5** – Уровень вертикальной активности на периферии у крыс разных групп в тесте «открытое поле», Me(Q1–Q3), количество стоек на задних конечностях по всей площади арены установки

Неделя эксперимента \ Группа	Контрольная группа (интактные крысы)	Группа сравнения (без ТЭС-терапии)	Основная группа (с ТЭС-терапией)
4 неделя	13 (10–17)	8,5 (1–15) *	6 (3–15) **, #
5 неделя	18 (13–19)	4,5 (3–13) ***	14 (5–21) ****, ##

Примечание: \* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,04$ ) отличие показателя у группы сравнения на 4-й неделе от показателя группы контроля; \*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,03$ ) отличие показателя крыс основной группы на 4-й неделе от показателя группы контроля; \*\*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,0001$ ) отличие показателя у группы сравнения на 5-й неделе от показателя группы контроля; \*\*\*\* – отсутствие статистически значимого (MW-test,  $p = 0,25$ ) отличия показателя крыс основной группы на 5-й неделе от показателя группы контроля; # – отсутствие статистически значимых различий (MW-test,  $p = 0,81$ ) между показателями группы сравнения и основной группы на 4-й неделе эксперимента; ## – статистически значимая (MW-test,  $p = 0,009$ ) разница между показателями группы сравнения и основной группы на 5-й неделе эксперимента.

На 5-й неделе эксперимента у крыс основной группы, получавших курс ТЭС-терапии, наблюдалась статистически значимо (MW-test,  $p = 0,009$ ) большая величина на 211,11 % медианы периферической вертикальной активности, чем у крыс из группы сравнения, не подвергавшихся ТЭС-терапии. При этом, в то время как у крыс группы сравнения данный показатель был статистически значимо (MW-test,  $p = 0,0001$ ) на 75 % ниже, чем у животных контрольной группы. У крыс основной группы не наблюдалось статистически значимых отличий величины данного показателя от крыс контрольной группы (MW-test,  $p = 0,25$ ).



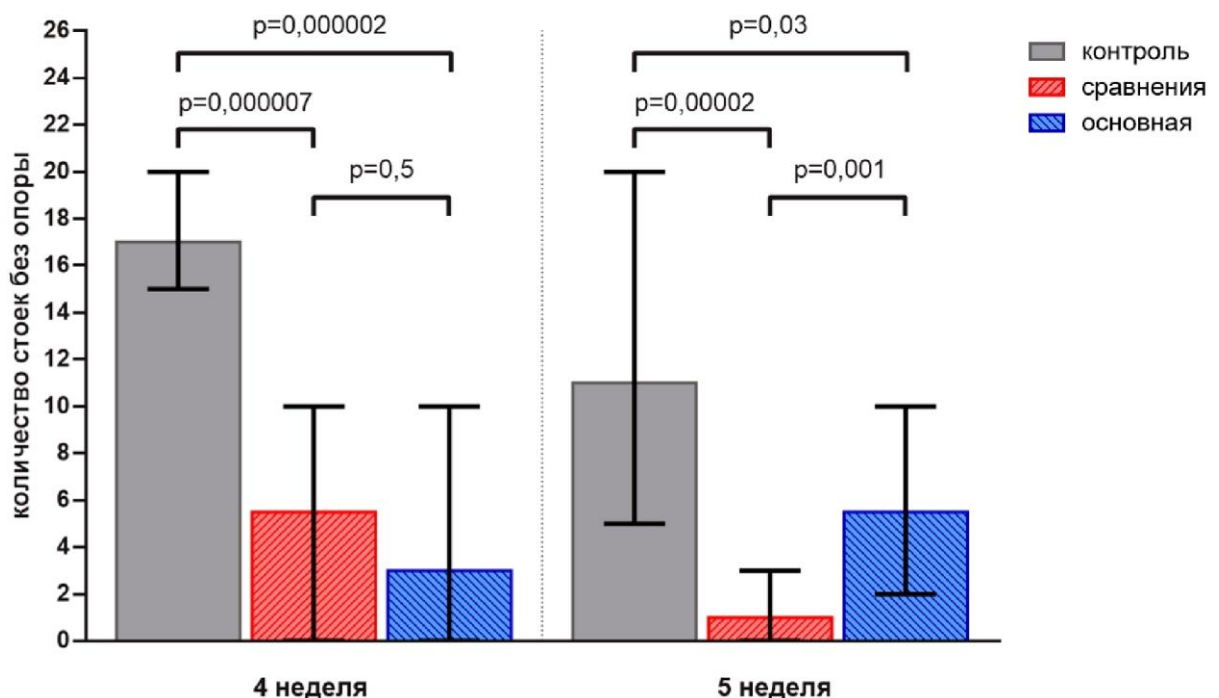
**Рисунок 3.4** – Уровни вертикальной активности на периферии у крыс разных групп в тесте «открытое поле»: количество стоек с опорой на боковые стенки установки, Me(Q1–Q3)

В таблице 3.6 и на рисунке 3.5 приведены показатели вертикальной активности в центре (количество стоек на задних лапах без опоры на боковые стенки) крыс разных групп на 4-й и 5-й неделях эксперимента. На 4-й неделе эксперимента показателям вертикальной активности в центре крысы группы сравнения и основной группы, после инъекций ротенона, уступали животным

**Таблица 3.6** – Уровень вертикальной активности в центре у крыс разных групп в тесте «открытое поле», Me(Q1–Q3), количество стоек на задних конечностях по всей площади арены установки

Неделя эксперимента \ Группа	Контрольная группа (интактные крысы)	Группа сравнения (без ТЭС-терапии)	Основная группа (с ТЭС-терапией)
4 неделя	17 (15–20)	5,5 (0–10) *	3 (0–10) **, #
5 неделя	11 (5–20)	1 (0–3) ***	5,5 (2–10) ****, ##

Примечание: \* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,000007$ ) отличие показателя крыс группы сравнения на 4-й неделе от показателя группы контроля; \*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,000002$ ) отличие показателя крыс основной группы на 4-й неделе от показателя группы контроля; \*\*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,000002$ ) отличие показателя у группы сравнения на 5-й неделе от показателя группы контроля; \*\*\*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,03$ ) отличие показателя крыс основной группы на 5-й неделе от показателя группы контроля; # – отсутствие статистически значимых различий (MW-test,  $p = 0,5$ ) между показателями группы сравнения и основной группы на 4-й неделе эксперимента; ## – статистически значимая (MW-test,  $p = 0,001$ ) разница между показателями группы сравнения и основной группы на 5-й неделе эксперимента.



**Рисунок 3.5** – Уровни вертикальной активности в центре у крыс разных групп в тесте «открытое поле»: количество стоек без опоры на боковые стенки установки, Me(Q1–Q3)

из контрольной группы, имея статистически значимо (MW-test,  $p = 0,000007$  и  $p = 0,000002$ ) более низкие значения медианы количества вставаний на

задние лапы на 67,65 % и 82,35 % соответственно. Между показателями группы сравнения и основной на 4-й неделе эксперимента статистически значимых различий не наблюдалось (MW-test,  $p = 0,5$ ).

На 5-й неделе эксперимента у крыс группы сравнения и основной группы уровни вертикальной активности в центре также имели статистически значимо (MW-test,  $p = 0,00002$  и  $p = 0,03$ ) более низкие значения, чем у группы контроля на 90,91 % и 50 %. При этом показатели крыс основной группы после курса ТЭС-терапии статистически значимо (MW-test,  $p = 0,001$ ) были на 450 % выше, чем у крыс группы сравнения, не получавших ТЭС-терапию.

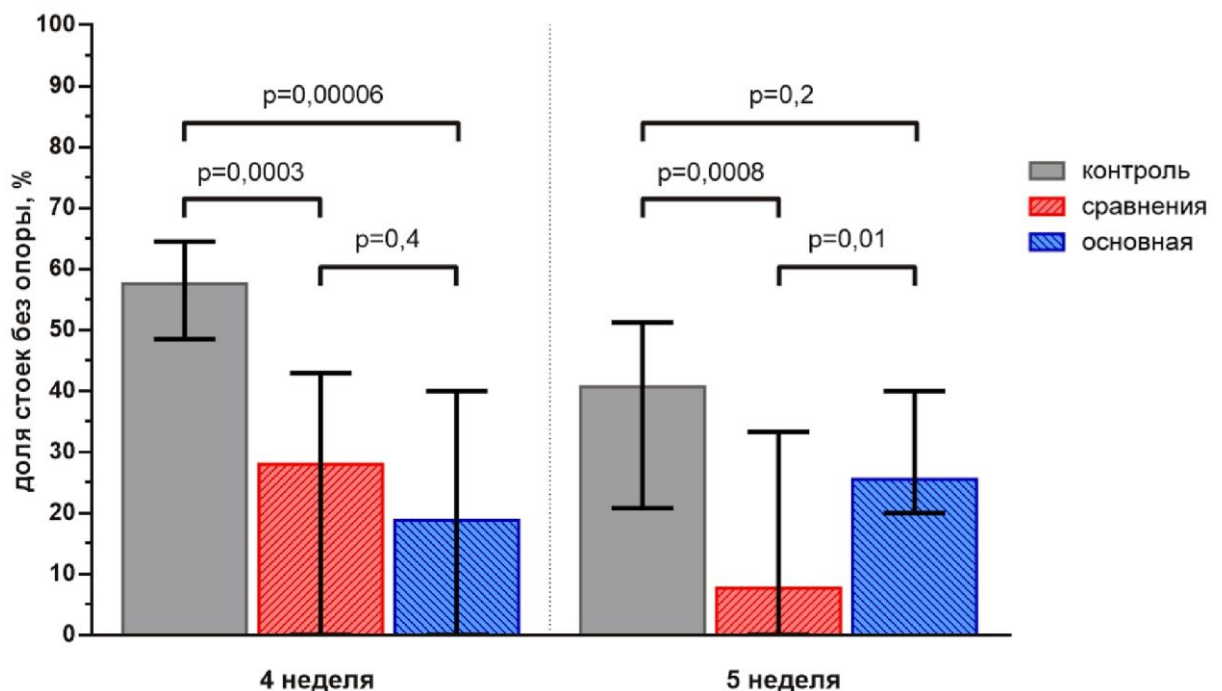
В таблице 3.7 и на рисунке 3.6 приведены данные о доле вертикальной активности в центре от общего уровня вертикальной активности по всей площади установки. На 4-й неделе эксперимента между показателями вертикальной активности в центре от общего уровня вертикальной активности у крыс группы сравнения и основной группы, получавших ротенон, не наблюдалось статистически значимых различий (MW-test,  $p = 0,4$ ). При этом у обеих этих групп данный показатель статистически значимо (MW-test,  $p = 0,0003$  и  $p = 0,00006$ ) был на 51,39 % и 67,36 % соответственно ниже, чем в контрольной группе.

На 5-й неделе эксперимента у крыс основной группы после недельного курса ТЭС-терапии вертикальная активность в центре становится статистически значимо (MW-test,  $p = 0,01$ ) на 231,17 % больше, чем у крыс группы сравнения, не подвергавшихся данной процедуре. При этом у крыс группы сравнения вертикальная активность в центре статистически значимо (MW-test,  $p = 0,0008$ ) становится на 81,08 % ниже относительно контроля, а у крыс основной группы данный показатель, хоть и ниже, чем в группе контроля на 37,35 %, но эти различия не носят статистически значимого характера (MW-test,  $p = 0,2$ ).

**Таблица 3.7** – Доля вертикальной активности в центре от общего уровня вертикальной активности в тесте «открытое поле», Me(Q1–Q3), % количества стоек на задних конечностях без опоры на боковые стенки установки от общего количества стоек на задних конечностях (с опорой и без по всей площади установки)

Неделя эксперимента \ Группа	Контрольная группа (интактные крысы)	Группа сравнения (без ТЭС-терапии)	Основная группа (с ТЭС-терапией)
4 неделя	57,6 (48,5–64,5)	28 (0–42,9) *	18,8 (0–40) **, #
5 неделя	40,7 (20,8–51,2)	7,7 (0–33,3) ***	25,5 (20–40) ****, ##

Примечание: \* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,0003$ ) отличие показателя у группы сравнения на 4-й неделе от показателя группы контроля; \*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,00006$ ) отличие показателя крыс основной группы на 4-й неделе от показателя группы контроля; \*\*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,0008$ ) отличие показателя у группы сравнения на 5-й неделе от показателя группы контроля; \*\*\*\* – отсутствие статистически значимых (MW-test,  $p = 0,2$ ) различий показателей между показателями крыс основной группы и группы контроля на 5-й неделе; # – отсутствие статистически значимых различий (MW-test,  $p = 0,4$ ) между показателями группы сравнения и основной группы на 4-й неделе эксперимента; ## – статистически значимая (MW-test,  $p = 0,01$ ) разница между показателями группы сравнения и основной группы на 5-й неделе эксперимента.



**Рисунок 3.6** – Доля вертикальной активности в центре у крыс разных групп, от общего уровня вертикальной активности в тесте «открытое поле», Me (Q1–Q3): количество стоек без опоры на боковые стенки установки, Me(Q1–Q3)

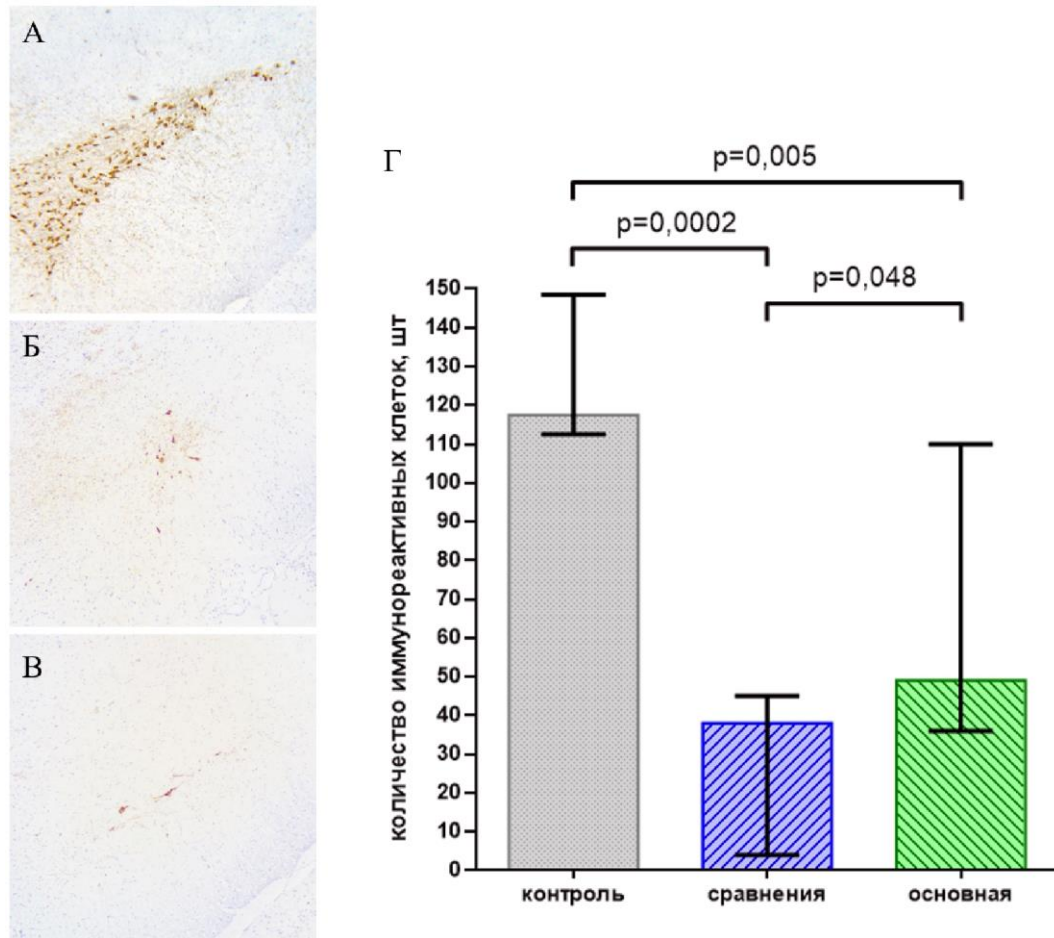
### 3.3. Влияние ТЭС-терапии на содержание тирозингидроксилазы в нейронах черной субстанции крыс с моделью ротенон-индуцированного паркинсонизма

Иммуногистохимический анализ состояния черной субстанции крыс выявил статистически значимое (MW-test,  $p = 0,0002$  и  $p = 0,005$ ) снижение количества нейронов на срезах черной субстанции у крыс группы сравнения (на 67,5 %) и основной группы (на 58,1 %), подвергавшихся ротеноновой интоксикации относительно крыс группы контроля (таблица 3.8, рисунок 3.7). При этом, у крыс основной группы, получавших недельный курс ТЭС-терапии с 4-й по 5-ю неделю эксперимента, количество нейронов было статистически значимо (MW-test,  $p = 0,048$ ) больше на 30,0 %, чем у группы сравнения. Это свидетельствует о меньшей выраженности нейродегенеративных процессов в данной структуре у крыс, подвергнутых воздействию ротенона, получавших ТЭС-терапию, в сравнении с группой крыс, не подвергнутых ТЭС-терапии.

**Таблица 3.8** – Результаты морфометрического анализа сохранности нейронов черной субстанции, количество нейронов, положительно окрашенных на тирозингидроксилазу, Me(Q1–Q3)

Группа	Количество клеток, шт
Контроль	117,0 (112,5–148,5)
Сравнения	38,0 (4,0–45,0)*
Основная	49,0 (36,0–110,0)**, #

Примечание: \* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,0002$ ) отличие показателя группы сравнения от показателя группы контроля; \*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,048$ ) отличие показателя основной группы от показателя группы сравнения; # – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,005$ ) между показателями основной группы и группы контроля.



**Рисунок 3.7** – Результаты иммуногистохимического контроля дегенеративных изменений нейронов черной субстанции у крыс различных групп: Иммуногистохимическая окраска на тирозингидроксилазу дофаминергических нейронов черной субстанции крысы: А – контрольной группы; Б – группы сравнения; В – основная группа; Г – результаты морфометрического анализа сохранности нейронов черной субстанции, количество нейронов, в штуках, Me(Q1–Q3)

### 3.4. Уровни $\beta$ -эндорфина в плазме крови у крыс различных групп

Результаты количественной оценки содержания  $\beta$ -эндорфина в плазме крови у крыс с моделью патологического тревогоподобного состояния представлены в таблице 3.9 и на рисунке 3.8.

Из таблицы 3.9 и рисунка 3.8 видно, что на 5-й неделе эксперимента у крыс группы сравнения и основной группы медианы уровня  $\beta$ -эндорфина имели статистически достоверную (MW-test,  $p = 0,04$ ) разницу – медиана уровня  $\beta$ -эндорфина в крови у крыс основной группы, получавших ТЭС-терапию, была на 56,86 % выше, чем у крыс группы сравнения, не

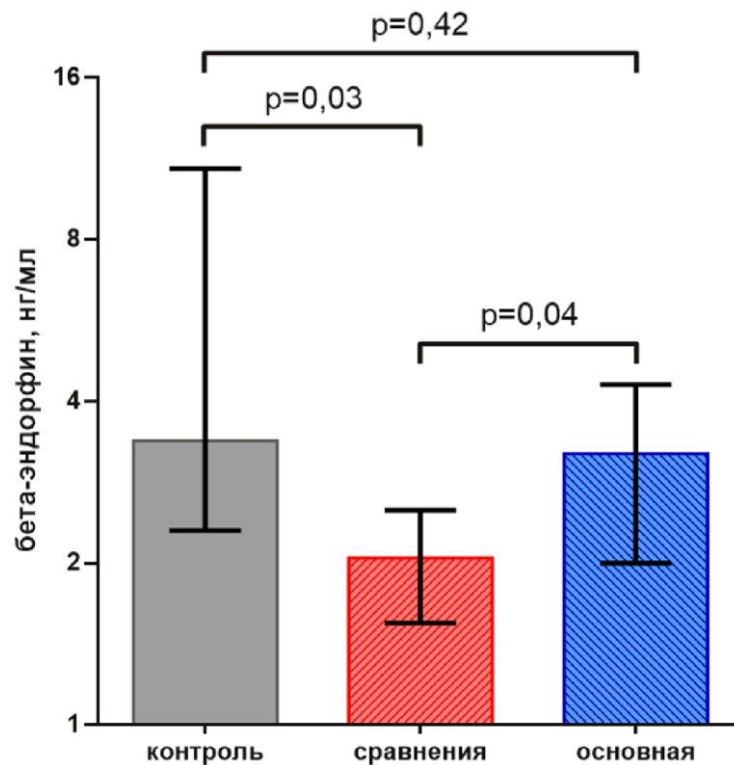


подвергавшихся воздействию. При этом, у крыс группы сравнения, данный показатель был статистически значимо (MW-test,  $p = 0,03$ ) ниже, чем у крыс контрольной группы, в то время, как у крыс основной группы в уровне  $\beta$ -эндорфина не наблюдалось статистически значимых отличий (MW-test,  $p = 0,42$ ) по сравнению с крысами контрольной группы.

**Таблица 3.9** – Уровень  $\beta$ -эндорфина в плазме крови у крыс различных групп на 5-й неделе эксперимента, Me(Q1–Q3), нг/мл

Группа	Уровень $\beta$ -эндорфина в плазме крови
Контроль	3,38 (2,30–10,84)
Сравнения	2,04 (1,55–2,51)*
Основная	3,20 (2,00–4,30)**, #

Примечание: \* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,03$ ) отличие показателя группы сравнения от показателя группы контроля; \*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,04$ ) отличие показателя основной группы от показателя группы сравнения; # – отсутствие статистически значимых различий (MW-test,  $p = 0,42$ ) между показателями основной группы и группы контроля.



**Рисунок 3.8** – Уровень  $\beta$ -эндорфина в плазме крови у крыс разных групп на 5-й неделе эксперимента, Me(Q1–Q3), нг/мл



Таким образом, недельный курс ТЭС-терапии способствует нормализации уровня  $\beta$ -эндорфина у крыс, что проявляется его более высоким содержанием в плазме, чем у крыс группы сравнения, у которых данный показатель статистически значимо снижен относительно контроля и основной группы.

Это говорит о воздействии ТЭС-терапии на опиоидергическую систему, приводящем к усилению выработки и высвобождения  $\beta$ -эндорфина, что проявляется наблюдаемым его повышением.

### 3.5. Уровни кортикостерона в плазме крови у крыс различных групп

Результаты количественной оценки содержания кортикостерона в плазме крови у крыс с моделью патологического тревогоподобного состояния представлены в таблице 3.10 и на рисунке 3.9.

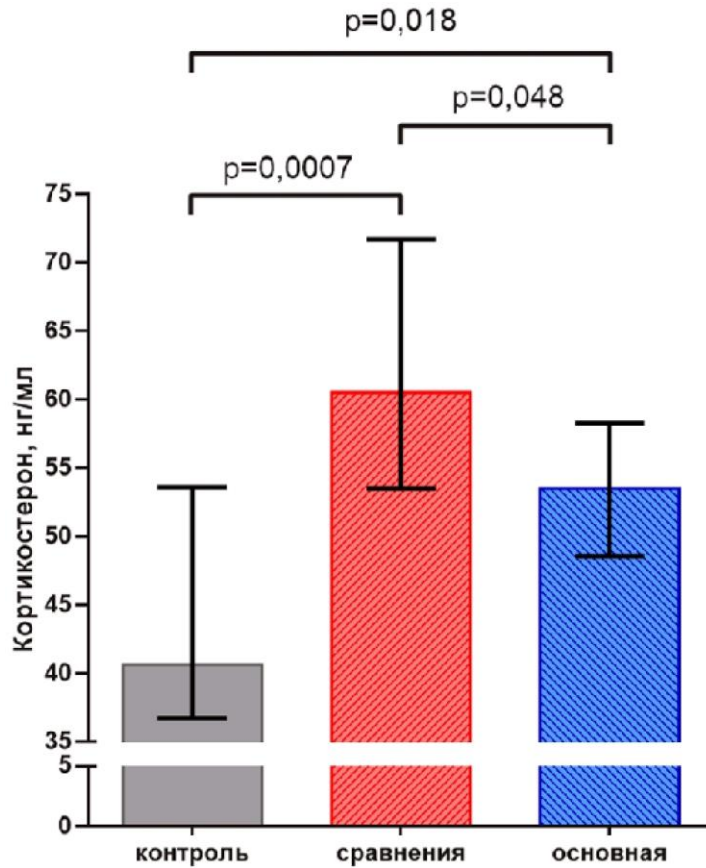
**Таблица 3.10** – Уровень кортикостерона в плазме крови у крыс различных групп на 5-й неделе эксперимента, Me(Q1–Q3), нг/мл

Группа	Уровень кортикостерона в плазме крови
Контроль	40,65 (36,77–53,61)
Сравнения	60,55 (53,54–71,74)*
Основная	53,54 (48,59–58,31)**,**

Примечание: \* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,0007$ ) отличие показателя группы сравнения от показателя группы контроля; \*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,018$ ) отличие показателя основной группы от показателя группы контроля; \*\*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,048$ ) отличие показателя основной группы от группы сравнения.

Из таблицы 3.10 и рисунка 3.9 видно, что на 5-й неделе эксперимента у крыс группы сравнения и основной группы медиана уровня кортикостерона в плазме крови статистически значимо (MW-test,  $p = 0,0007$  и  $p = 0,0018$  соответственно) выше (на 48,95 % и 31,71 % соответственно), чем в контрольной группе. При этом между данным показателем у крыс основной

группы, получавших ТЭС-терапию, медиана уровня кортикостерона в плазме крови статистически значимо (MW-test,  $p = 0,048$ ) ниже данного показателя у крыс группы сравнения на 11,58 %.



**Рисунок 3.9** – Уровень кортикостерона в плазме крови у крыс разных групп на 5-й неделе эксперимента, Me(Q1–Q3), нг/мл

Таким образом, более низкий уровень кортикостерона в плазме крови у крыс, получавших ТЭС-терапию, в сравнении с животными, не подвергавшимся её воздействию, позволяет сделать заключение о способности данного метода лечебного воздействия снижать выраженность тревогоподобного состояния у экспериментальных животных. Поскольку повышение уровня кортикостерона является элементом активации стресс-реализующей системы, его более низкий уровень у крыс основной группы, чем у группы сравнения, обусловлен стресс-лимитирующим эффектом (А.С. Липатова, 2019) ТЭС-терапии.

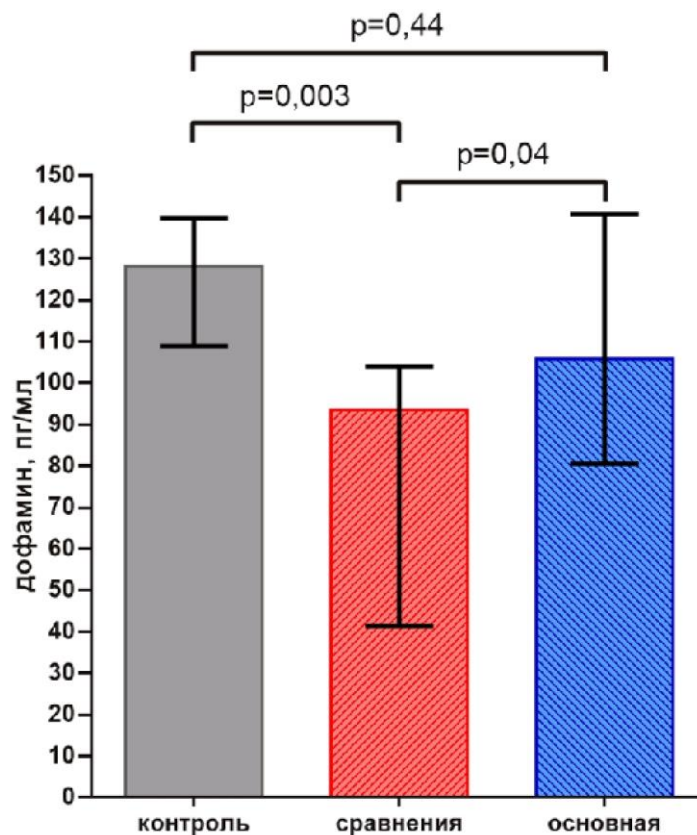
### 3.6. Уровни дофамина в плазме крови у крыс различных групп

Результаты количественной оценки содержания дофамина в плазме крови у крыс с моделью патологического тревогоподобного состояния представлены в таблице 3.11 и на рисунке 3.10.

**Таблица 3.11** – Уровень дофамина в плазме крови у крыс различных групп на 5-й неделе эксперимента, Me(Q1–Q3), пг/мл

Группа	Уровень дофамина в плазме крови
Контроль	128,25 (108,9–139,7)
Сравнения	93,53 (41,31–104,0)*
Основная	105,9 (80,6–140,7)**, #

Примечание: \* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,003$ ) отличие показателя группы сравнения от показателя группы контроля; \*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,04$ ) отличие показателя основной группы от показателя группы сравнения; # – отсутствие статистически значимых различий (MW-test,  $p = 0,44$ ) между показателями основной группы и группы контроля.



**Рисунок 3.10** – Уровень дофамина в плазме крови у крыс разных групп на 5-й неделе эксперимента, Me(Q1–Q3), пг/мл

Из таблицы 3.11 и рисунка 3.10 видно, что на 5-й неделе эксперимента у крыс группы сравнения и основной группы медиана уровня дофамина имела статистически значимую (MW-test,  $p = 0,04$ ) разницу. Она была на 13,23 % выше, чем у крыс группы сравнения, не подвергавшихся воздействию. При этом у крыс группы сравнения, данный показатель был статистически значимо (MW-test,  $p = 0,003$ ) ниже на 27,1 %, чем у крыс контрольной группы. В то время как у крыс основной группы, отличие данного показателя от контрольной группы не было статистически значимо (MW-test,  $p = 0,44$ ).

Наблюдаемые результаты оценки содержания дофамина в плазме крови у крыс различных групп позволяют сделать вывод о гомеостатическом эффекте ТЭС-терапии в отношении данного показателя. Это проявляется отсутствием статистически значимых отличий уровня плазменного дофамина у крыс, получавших ТЭС-терапию от крыс контрольной группы, в то время, как у крыс группы сравнения величина плазменного дофамина статистически значимо ниже как показателей контрольной группы, так и основной. Данное явление обусловлено способностью ТЭС-терапии модулировать работу дофаминергического аппарата (А.С. Липатова, 2019).

### **3.7. Уровни серотонина в плазме крови у крыс различных групп**

Результаты количественной оценки содержания серотонина в плазме крови у крыс с моделью патологического тревогоподобного состояния представлены в таблице 3.12 и на рисунке 3.11.

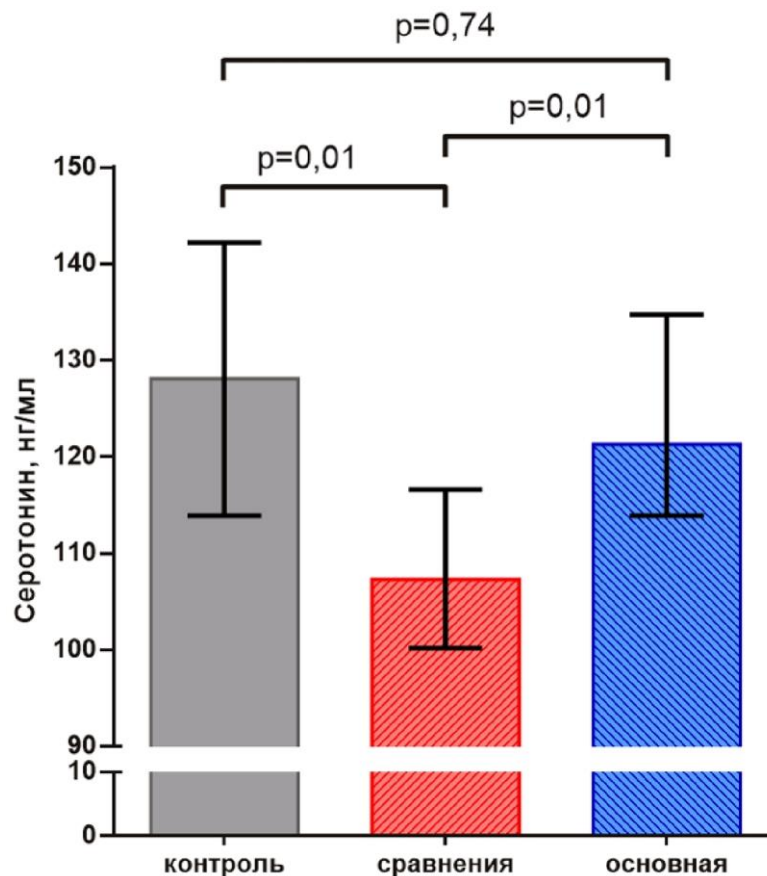
Из таблицы 3.12 и рисунка 3.11 можно видеть, что на 5-й неделе эксперимента у крыс группы сравнения и основной группы медиана уровня серотонина имела статистически значимую (MW-test,  $p = 0,01$ ) разницу. Медиана уровня серотонина в крови у крыс основной группы, получавших ТЭС-терапию, была на 13,05 % выше, чем у крыс группы сравнения, не

подвергавшихся воздействию. При этом у крыс группы сравнения, данный показатель был статистически значимо (MW-test,  $p = 0,01$ ) ниже на 16,24 %, чем у крыс контрольной группы. В то время как у крыс основной группы не наблюдалось статистически значимых отличий (MW-test,  $p = 0,74$ ) от контроля.

**Таблица 3.12** – Уровень серотонина в плазме крови у крыс различных групп на 5-й неделе эксперимента, Me (Q1–Q3), нг/мл

Группа	Уровень серотонина в плазме крови
Контроль	128,1 (113,9–142,2)
Сравнения	107,3 (100,2–116,6) *
Основная	121,3 (113,9–134,7) **, ***

Примечание: \* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,01$ ) отличие показателя группы сравнения от показателя группы контроля; \*\* – отсутствие статистически значимого (MW-test,  $p = 0,74$ ) отличия показателя основной группы от показателя группы контроля; \*\*\* – статистически значимое (MW-test,  $p = 0,01$ ) отличие показателя основной группы от группы сравнения.



**Рисунок 3.11** – Уровень серотонина в плазме крови у крыс разных групп на 5-й неделе эксперимента, Me(Q1–Q3), нг/мл

Таким образом, можно сделать заключение о гомеостатическом влиянии ТЭС-терапии на уровень плазменного серотонина, что проявляется в отсутствие статистически значимой разницы уровня серотонина в плазме крови у крыс, получавших ТЭС-терапию от животных из контрольной группы. В то время, как у крыс группы сравнения величина данного показателя статистически значимо ниже как у животных контрольной группы, так и основной. Данное явление обусловлено способностью ТЭС-терапии модулировать работу серотонинергического аппарата (А.С. Липатова, 2019).

### **3.8. Показатели моторных нарушений у крыс при моделировании ротенон-индуцированного паркинсонизма**

В таблице 3.13 представлена оценка по 3-бальной шкале выраженности признаков моторного дефицита у крыс группы № 2 и группы № 3 с токсической моделью ротенон-индуцированного паркинсонизма на 4-й и на 5-й неделях эксперимента.

**Таблица 3.13** – Выраженность суммарных показателей моторного дефицита у крыс разных групп с моделью ротенон-индуцированного паркинсонизма, Me(Q1–Q3), в баллах

Группа Неделя эксперимента	Сравнения (не получали ТЭС)	Основная (получали ТЭС)	MW-test, p
4 неделя	7,5 (6–9)	7 (7–9)	0,89
5 неделя	5 (3–5)	3 (2–3)	0,04

Из таблицы 3.13 видно, что на 4-й неделе между группами отсутствовали статистически значимые различия в степени выраженности моторного дефицита, вызванного хроническим системным подкожным введением ротенона. На 5-й неделе, после прохождения крысами из группы № 3 недельного курса ТЭС-терапии, у них появилась статистически значимо меньшая, в 1,66 раза, выраженность суммарных показателей моторного дефицита.

Характер наблюдаемых результатов позволяет сделать заключение о том, что ТЭС-терапия снизила выраженность моторного дефицита у животных основной группы.

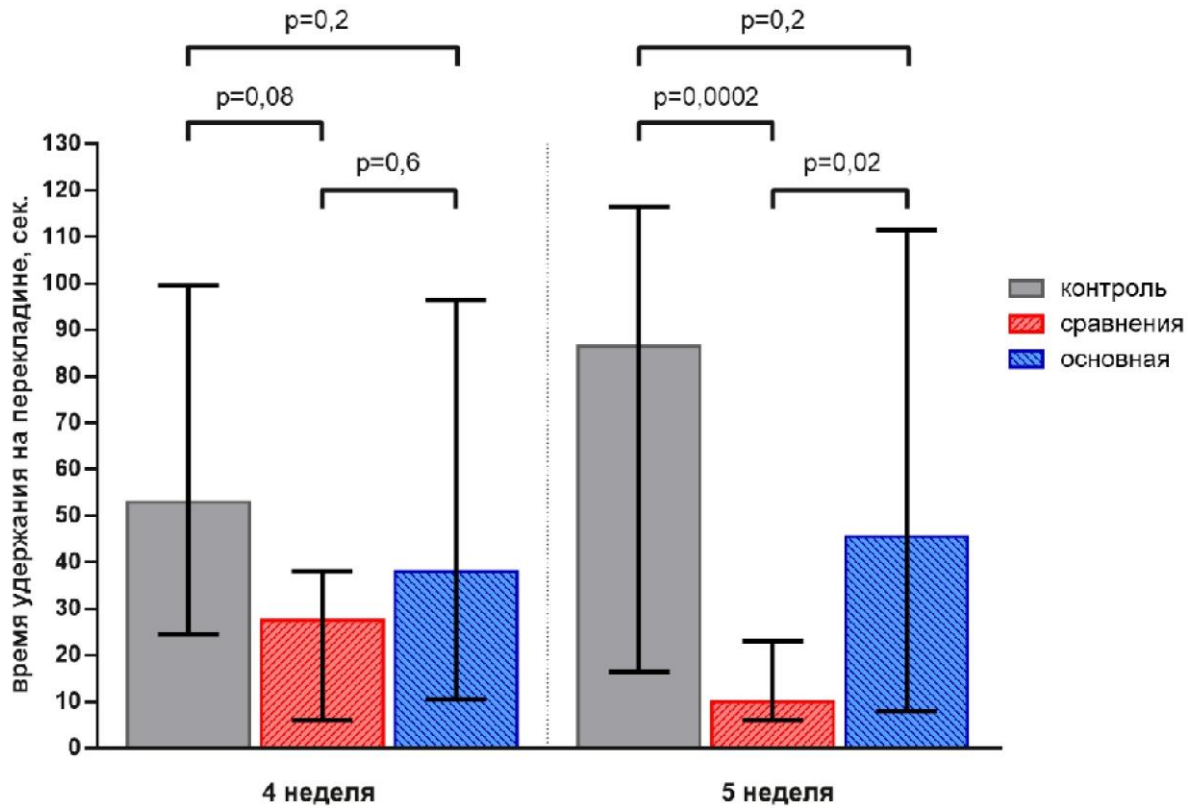
### 3.9. Влияние ТЭС-терапии на показатели крыс в тесте «вис на горизонтальной перекладине»

Результаты выполнения теста «вис на горизонтальной перекладине» представлены в таблице 3.14 и на рисунке 3.12. Из данных таблицы и рисунка видно, что на 4-й неделе эксперимента между показателями крыс группы сравнения и основной группы не наблюдалось статистически значимых различий (MW-test,  $p = 0,6$ ). Показатели каждой из этих групп были на 48,11 % и 28,3 % соответственно ниже, чем у животных из группы контроля, однако эти различия в обоих случаях и не имели достаточной статистической значимости (MW-test,  $p = 0,08$  и  $p = 0,2$ ).

**Таблица 3.14** – Время удержания крыс разных групп в тесте «вис на горизонтальной перекладине», Me (Q1–Q3), в секундах

Неделя эксперимента \ Группа	Контрольная группа (интактные крысы)	Группа сравнения (без ТЭС-терапии)	Основная группа (с ТЭС-терапией)
4 неделя	53 (24,5–99,5)	27,5 (6–38) *	38 (10,5–96,5) **, #
5 неделя	86,5 (16,5–116,5)	10 (6–23) ***	45,5 (8–111,5) ****, ##

Примечание: \* – отсутствие статистически значимых отличий показателя группы сравнения от группы контроля на 4-й неделе (MW-test,  $p = 0,08$ ); \*\* – отсутствие статистически значимых отличий показателя основной группы от группы контроля на 4-й неделе (MW-test,  $p = 0,2$ ); # – отсутствие статистически значимых различий между показателями основной группы и группы сравнения на 4-й неделе (MW-test,  $p = 0,6$ ); \*\*\*\* – статистически значимое отличие показателя группы сравнения от группы контроля на 5-й неделе (MW-test,  $p = 0,0002$ ); \*\*\*\*\* – отсутствие статистически значимых отличий показателя основной группы от группы контроля на 5-й неделе (MW-test,  $p = 0,2$ ); ## – статистически значимая (MW-test,  $p = 0,02$ ) разница между показателями группы сравнения и основной группы на 5-й неделе эксперимента.



**Рисунок 3.12** – Время удержания на горизонтальной перекладине у крыс разных групп в тесте «вис на горизонтальной перекладине», Me(Q1–Q3), в сек

На 5-й неделе эксперимента наблюдалась иная картина – между показателями крыс группы сравнения и основной группы возникла статистически значимая разница (MW-test,  $p = 0,02$ ). У крыс в основной группы медианное значение времени вися на горизонтальной перекладине на 355,0 % превышало данный показатель крыс группы сравнения. При этом медиана вися у крыс основной группы, получавших ТЭС-терапию, не имела статистически значимой разницы (MW-test,  $p = 0,2$ ) с данным показателем у группы контроля, хоть и была на 47,4 % ниже. В то время как время вися на горизонтальной перекладине у крыс группы сравнения, не подвергавшихся воздействию ТЭС-терапии, было статистически значимо (MW-test,  $p = 0,0002$ ) на 88,44 % ниже, чем у интактных животных.



## ГЛАВА 4.

### ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Патологическая тревожность, наравне с другими расстройствами психоэмоциональной сферы, такими, как депрессия, является одним из немоторных проявлений паркинсонизма (А. Bonito-Oliva et al., 2014; А.А. Таппахов, Т.Я. Николаева, 2016; F. Faivre et al., 2018). Данное аффективное расстройство имеет место не только у пациентов с различными формами паркинсонизма, например – болезнью Паркинсона (R.M.J. van der Velden et al., 2018), но также может быть воспроизведено у животных, в частности у крыс, при моделировании данного нейродегенеративного заболевания с помощью нейротоксинов (F. Faivre et al., 2018; J.C.F. Vieira et al., 2019).

В данном диссертационном исследовании крысы группы сравнения и основной группы подвергались хроническому системному воздействию ротенона. Контроль результатов токсического воздействия ротенона выполнялся при помощи оценки общего состояния крыс, выраженности патологического тревогоподобного состояния, моторных нарушений и, в завершении эксперимента, иммуногистохимическим методом оценивалось воздействие ротенона на дофаминергические нейроны черной субстанции головного мозга. Для оценки наличия и выраженности патологического тревогоподобного состояния, индуцированного у крыс системным хроническим введением ротенона, применялись классические поведенческие тесты – «открытое поле» и «темно-светлая камера». Оценка тревожности в тестах «открытое поле» и «темно-светлая камера» основана на регистрации изменений в поведении животных в условиях новизны от возникновения двух противоположных мотиваций – мотивации исследовать новое окружение и мотивации избегать источники потенциальной опасности, путем снижения выраженности разных форм поведения, что в итоге выражалось в угнетении исследовательского поведения (А.В. Амикишиева, 2009; L.A. Gunaydin et al., 2016; А.Х. Каде и др., 2018).

Биохимические показатели, такие как уровни плазменного кортикостерона, дофамина, серотонина и  $\beta$ -эндорфина оценивались методом иммуноферментного анализа. Для корректного объяснения некоторых наиболее вероятных механизмов, наблюдаемых изменений в поведении крыс в тестах «открытое поле» и «темно-светлая камера», «вис на горизонтальной перекладине», уровней дофамина, серотонина, кортикостерона и  $\beta$ -эндорфина в плазме крови и гистологических изменений черной субстанции под действием транскраниальной электростимуляции необходимо было сопоставить изменение каждого проанализированного показателя с известными данными о возможных механизмах патогенеза патологической тревожности.

Из данных литературы известно, что ротенон является гидрофобным нейротоксином, способным легко диффундировать сквозь биологические мембраны, проникая, таким образом, внутрь клеток и расположенных в их цитоплазме митохондрий (Н.А. Малиновская и др., 2012; S.A. Jagmag et al., 2016; S. Bhurtel et al., 2019). Основными мишенями ротенона в клетке являются митохондриальный комплекс I дыхательной цепи и микротрубочки цитоскелета (Y. Ren et al., 2012; N. Xiong et al., 2012; S.A. Jagmag et al., 2016; N.F. Abdelkader et al., 2017; S. Bhurtel et al., 2019). Митохондриальный комплекс I представляет собой состоящий из 45 субъединиц фермент, связанный с мембраной и является крупнейшим и наиболее сложно устроенным ферментом всей дыхательной цепи (K. Fiedorczuk et al., 2016; Wirth C. et al., 2016; Richardson J. R. et al., 2019). Ротенон оказывает ингибирующее действие на работу данного комплекса (Xiong N. et al., 2012; S.A. Jagmag et al., 2016; J.R. Richardson et al., 2019). Поскольку указанный комплекс связан с образованием реактивных форм кислорода, то нарушения в его работе способны приводить к возникновению заболеваний, в основе которых лежат процессы дегенерации (C. Wirth et al., 2016). Таким образом, под воздействием ротенона происходит нарушение функционирования митохондрий, приводящее к окислительному стрессу и гибели дофаминовых

нейронов (N. Xiong et al., 2012; Д.Н. Воронков и др., 2013; S. Heinz et al., 2017). Гибель дофаминергических нейронов под действием нейротоксина ротенона подтверждена гистологически. Происходило уменьшение количества нейронов, положительно окрашенных на фермент тирозингидроксилазу, у крыс, подвергавшихся воздействию ротенона (в сравнении с крысами контрольной группы). Кроме того, гибель дофаминергических нейронов черной субстанции приводила к нарушениям моторной функции передних конечностей крыс. У крыс группы сравнения и основной группы на 4-й неделе отмечено статистически значимое снижение показателей времени вися на горизонтальной перекладине, в сравнении с крысами группы контроля. Это согласуется с известными данными литературы о подобном характере нарушений у крыс в данном типе эксперимента (C. von Wrangel et al., 2015).

При этом оксидативный стресс и ассоциированное с ним нарушение нормальной работы митохондрий является одним из возможных основных патогенетических звеньев в развитии различных психоэмоциональных нарушений, в том числе тревожных расстройств (E.L. Streck et al., 2014; I. Smaga et al. 2015; R.F. McCann, D.A. Ross, 2018).

Другой мишенью ротенона являются микротрубочки цитоскелета клетки. Вызванная воздействием ротенона деполимеризация микротрубочек (N. Xiong et al., 2017) нарушает везикулярный транспорт (Y. Ren et al., 2012), что приводит к накоплению дофамина в телах нейронов и его не ферментативному окислению. Это так же способствует гибели дофаминергических нейронов (Y. Ren et al., 2012; Д.Н. Воронков и др., 2013). Кроме того, повреждение системы микротрубочек отражается на функционировании митохондрий, которые нуждаются в элементах цитоскелета для перемещения в различные части нейрона. В первую очередь смещение идет по направлению к структурам, требующим наибольшего энергообеспечения в данный момент времени. Это вызывает нарушение

синаптической передачи, роста нейритов, процесса упаковки нейромедиатора в везикулы и, как следствие – изменяет характер синаптической пластичности в структурах мозга, вовлеченных в патогенез тревожных расстройств и депрессии (E.L. Streck et al., 2014; J. Allen et al., 2018; R.F. McCann, D.A. Ross, 2018). Развитие патологической тревожности у животных в эксперименте сопровождается снижением исследовательской активности в условиях новизны, имеющей место в поведенческих тестах (А.В. Амикишиева, 2009; L.A. Gunaydin, A.C. Kreitzer, 2016; А.Х. Каде и др., 2018), что и наблюдалось в ходе проведения данной работы. У крыс, после хронической интоксикации нейротоксином ротеноном, развилось патологическое тревогоподобное состояние, проявляющееся в увеличении выраженности паттернов тревогоподобного поведения в тестах «открытое поле» и «темно-светлая камера». В сравнении с контролем, крысы, подвергавшиеся воздействию ротенона на протяжении 28 дней, демонстрировали меньший уровень исследовательской активности в тесте «открытое поле», что проявлялось меньшим на 43,45 % (MW-test,  $p = 0,00001$ ) у группы сравнения и на 53,79 % (MW-test,  $p = 0,00002$ ) у основной группы количеством пройденных квадратов в арене установки. Так же это проявлялось уменьшением на 34,62 % и 53,85 % (MW-test,  $p = 0,04$  и  $p = 0,03$ ) уровней общей вертикальной активности у крыс группы сравнения и основной группы и уменьшения на 51,39 % и 67,36 % соответственно (MW-test,  $p = 0,0003$  и  $p = 0,00006$ ) доли вертикальной активности в центре относительно группы контроля. Данные изменения поведения в тесте «открытое поле» могут быть охарактеризованы как увеличение выраженности паттернов тревогоподобного поведения, и согласуются с данными других исследований (V. Venkateshgobi et al., 2018). У животных, подвергнутых воздействию ротенона, наблюдался аналогичный характер изменения данных параметров в тесте «открытое поле».

Особый интерес для изучения психоэмоционального состояния крыс представляет такой поведенческий паттерн, как вертикальная активность, т.е.

количество стоек животного на задних лапах, наблюдаемый в тесте «открытое поле». Данный поведенческий паттерн, наряду с горизонтальной активностью, является элементом исследовательского поведения в условиях новизны (W. Matsuda et al., 2018). При этом вертикальная активность в большей степени отражает именно психоэмоциональный статус животных (W. Matsuda et al., 2018). При оценке общего уровня вертикальной активности животные группы сравнения и основной группы, после хронического системного введения ротенона, статистически значимо (MW-test,  $p = 0,00006$ ) демонстрировали более низкое значение данного показателя (на 43,1 % и 55,17 %, соответственно), чем животные контрольной группы, не подвергавшиеся воздействию нейротоксина. Такое снижение уровня вертикальной активности можно рассматривать как маркер тревогоподобного поведения (O. Sturman et al., 2018). При оценке структуры вертикальной активности, т. е. выраженности отдельных её подтипов и их соотношения, так же наблюдаются отличия в показателях у крыс, подвергнутых ротеноновой интоксикации от интактных животных. У крыс, подвергнутых ротеноновой интоксикации (группа сравнения и основная группа) на 4-й неделе значения медианы количества стоек с опорой и стоек без опоры статистически значимо снизились относительно этого показателя у животных контрольной группы на 67,65 % и 34,62 % соответственно в группе сравнения и на 82,35 % и 53,85 % в основной группе. При этом наблюдались изменения в соотношении этих двух видов активности. Процентная доля вертикальной активности в центре арены (количество стоек без опоры) от общего уровня вертикальной активности (количество стоек с опорой на стенки и без опоры на стенки) у крыс, подвергнутых ротеноновой интоксикации (группа сравнения и основная группа) была статистически значимо (MW-test,  $p = 0,0003$  и  $p = 0,00006$ ) на 51,39 % и 67,36 %, соответственно, меньше, чем в контрольной группе. Хотя стойки и с опорой на стенки и без опоры, отражают, как было сказано выше, вместе с уровнем

локомоторной активности, эмоциональное состояние крыс. Имеется мнение, что именно стойки без опоры в большей степени являются поведенческими паттернами, связанными с эмоциональным состоянием крыс, в том числе с их уровнем психоэмоционального стресса и тревожности (O. Sturman et al., 2018). Исходя из этого, можно сделать вывод, что преимущественное падение именно выраженности вертикальной активности в центре (без опоры на стенки) говорит о развитии, под воздействием ротенона, патологического тревогоподобного состояния.

В тесте «темно-светлая камера» крысы, подвергнутые воздействию ротенона, демонстрировали на 55,75 % (MW-test,  $p = 0,046$ ) у группы сравнения и на 61,11 % (MW-test,  $p = 0,003$ ) у основной меньшее время нахождения в светлом отсеке, в сравнении с крысами контрольной группы. Это так же можно рассматривать как показатель формирования тревогоподобного поведения (Y. Bouter et al., 2019; N. Pitsikas et al., 2019).

Исходя из способности стресса приводить к развитию тревожных и тревожно-депрессивных расстройств (Z. Şahin et al., 2019) и предположения о наличии общего патогенетического базиса тревожных и депрессивных расстройств, может иметь место континуальная модель развития тревожно-депрессивных расстройств, согласно структуре которой, может быть выстроена гипотетическая патогенетическая цепь вида: «стресс – тревога – хроническая тревога – депрессия» (Н.Ю. Ракитская, 2009).

С.Н. Мосоловым, который активно разрабатывал вопрос коморбидности тревожных и депрессивных расстройств и их зависимость от таких факторов, как стресс, при описании механизмов патогенеза тревожно-депрессивных расстройств в рамках континуальной модели делается предположение о ключевой роли продолжительности воздействия стрессового фактора в прогрессировании клиники тревожно-депрессивного расстройства. Другими исследователями также подчеркивается, что стрессовое воздействие, носящее повторяющийся, либо постоянный характер

приводит к развитию тревожных и иных эмоциональных расстройств (Z. Şahin et al., 2019). Опираясь на данные нейробиологических исследований, сообщающих об участии гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси в клинически более ранней манифестацией тревожных расстройств относительно развития депрессии, С.Н. Мосолов, в рамках континуальной модели, предлагает следующую последовательность развития тревожно-депрессивных расстройств: субсиндромальные тревожные и депрессивные состояния – тревога – смешанное тревожно-депрессивное расстройство – тревожные (невротические расстройства) – коморбидные тревожные расстройства и развернутая депрессия – психотические тревожные и депрессивные синдромы. В данном случае автор не помещает стресс, в вышеприведенном ряду сменяющих друг друга этапов, подчеркивая его роль в качестве условия, которое может воздействовать на организм продолжительное время, обеспечивая последовательную смену клинических проявлений и прогрессирование расстройств (С.Н. Мосолов, 2007). Исходя из вышеописанной концепции, можно предположить, что интоксикация ротеноном, а также ее последствия, остающиеся после завершения введения нейротоксина, инициируя и поддерживая хронический стресс, могут способствовать прогрессированию и хронизации патологического тревогоподобного состояния у крыс, что наблюдается в динамике выраженности паттернов тревогоподобного поведения животных в тестах «открытое поле» и «темно-светлая камера».

Важно подчеркнуть, что в состоянии острой тревоги активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси выполняет адаптационную функцию (С. Faravelli et al., 2012). Однако пребывание в состоянии хронической тревожности приводит к срыву компенсаторных механизмов, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось остается в состоянии гиперактивации, оказывая уже негативное действие на адаптационные возможности организма (С. Faravelli et al., 2012). В данной работе это

проявилось статистически значимым (MW-test,  $p = 0,0002$ ) снижением времени виса на горизонтальной перекладине на 88,4 % относительно группы контроля на 5-й неделе эксперимента у крыс группы сравнения. По данным клинических исследований, у пациентов с тревожными, паническими и тревожно-депрессивными расстройствами обнаруживается дисрегуляция гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, которая может проявляться повышением уровня кортизола (С. Faravelli et al., 2012). У животных, демонстрирующих увеличение тревогоподобного поведения, отмечен повышенный уровень кортикостерона (L. Zhang et al., 2017). Кроме того, по имеющимся данным экспериментальных работ, системное хроническое введение ротенона приводит к увеличению уровня кортикостерона в крови у крыс (М. Alam, W.J. Schmidt, 2004). В настоящем исследовании, у крыс, подвергнутых системному хроническому воздействию ротенона, также большая выраженность паттернов тревогоподобного поведения в поведенческих тестах, по сравнению с группой контроля, сопровождалось статистически значимо ( $p = 0,0007$ ) более высоким (на 48,95 %), чем у животных в группе контроля, уровнем кортикостерона в плазме крови. Наблюдаемая разница в уровне плазменного кортикостерона у крыс группы контроля и группы сравнения согласуется с вышеописанными данными о его роли в развитии тревогоподобных состояний и влиянии ротенона на уровень данного гормона в крови и является биохимическим маркером возросшего уровня тревожности. Таким образом, изменения в работе гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и уровень стресса, в том числе и психоэмоционального (L. Zhang et al., 2017) могут быть оценены у крыс по уровню кортикостерона в плазме крови (А.М.С. Gomaа et al., 2017; М. Hadizadeh et al., 2019). Следовательно, изменение уровня плазменного кортикостерона имеет связь с выраженностью тревогоподобного поведения.

Активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы способна влиять на процессы, связанные с образованием активных форм



кислорода и развитием оксидативного стресса. Гиперсекреция глюкокортикоидов вызывает оксидативный стресс в клетках мозга крыс. Повышение уровня кортикостерона в плазме крови у крыс приводит к снижению активности ферментов антиоксидантной защиты и стимулирует образование активных форм кислорода (H. Sato et al., 2010; J.G. Spiers et al., 2015). Имеются экспериментальные данные, также демонстрирующие, что животные, подвергнутые инъекциям кортикостерона, демонстрируют тревогоподобное и депрессивноподобное поведение (S. Shibata et al., 2015; R. de Castro Chaves et al., 2019). Ранее уже было описано, что оксидативный стресс, в том числе, развивающийся из-за токсического действия ротенона (S. Kavuri et al., 2020), способен играть роль в развитии различных психических расстройств, в том числе патологических тревогоподобных состояний у крыс. Из этого следует, что гиперактивация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, с повышением уровня плазменного кортикостерона, могут усугублять индуцированный ротеноном оксидативный стресс, замыкая тем самым, порочный круг.

По данным различных клинических и доклинических исследований, серотонинергическая система также играет особую роль в модулировании некоторых физиологических и эмоциональных процессов. Вследствие этого, нарушения в структурах, вовлеченных в продукцию серотонина, и изменения уровня содержания серотонина в различных средах организма, могут быть связаны с возникновением немоторных нарушений, наблюдаемых при паркинсонизме (A. Sagna et al., 2014; P.C. Leal et al., 2019). Имеются данные клинических исследований, в ходе которых, путем сопоставления немоторных проявлений паркинсонизма и уровня серотонина в периферической крови у пациентов, было выявлено, что содержание серотонина в крови истощается. Это проявляется снижением плазменного уровня серотонина и нарастанием степени аффективных и когнитивных расстройств (Q. Tong et al., 2015; Т.В. Яковлева и др., 2017). Сниженный

уровень плазменного серотонина так же обнаруживается у пациентов с тревожно-депрессивными расстройствами (Е.С. Ткачева и др., 2016).

В ходе проведенного эксперимента, у крыс, подвергнутых системному хроническому воздействию ротенона, отмечено статистически значимое ( $p = 0,01$ ) снижение уровня серотонина в плазме крови (на 16,24 %), по сравнению с крысами контрольной группы, не подвергавшихся воздействию нейротоксина. Снижение уровня серотонина согласуется с вышеописанными данными о поведении серотонинергической системы и её роли в патогенезе аффективных расстройств, включая и патологические тревогоподобные состояния (Q. Tong et al., 2015; Т.В. Яковлева и др., 2017).

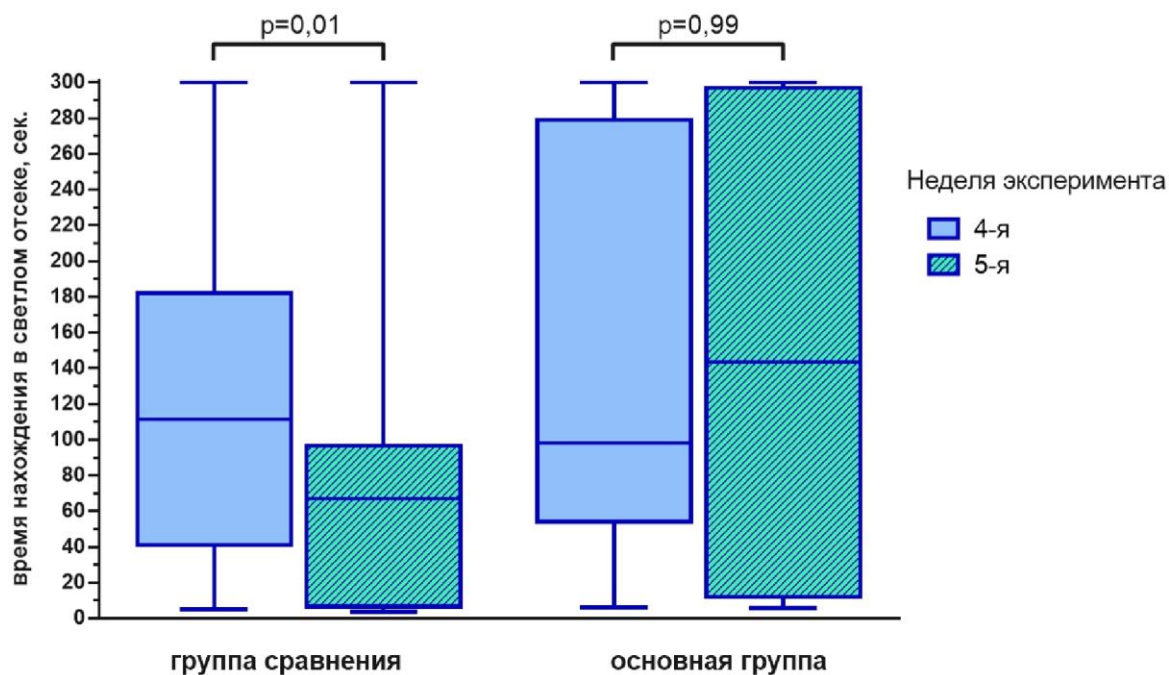
Данные литературы указывают на связь дофаминергической системы с возникновением тревогоподобного поведения у животных и уровнем тревожности у человека. Нарушения в её работе играют роль в развитии различных психических заболеваний и двигательных нарушений (M.R. Zarrindast, F. Khakpai, 2015). По имеющимся в некоторых экспериментальных работах данным, в ходе которых выполнялось моделирование паркинсонизма, у животных с деструкцией черной субстанции наблюдалось снижение содержания дофамина как в различных структурах головного мозга, так и, в меньшей степени, в крови (В.А. Пятикоп и др., 2005). В настоящем исследовании, крысы, подвергнутые системному хроническому воздействию ротенона, имели статистически значимо ( $p = 0,003$ ) более низкий уровень дофамина в плазме крови (на 25,2 %), чем животные контрольной группы.

При воздействии на организм различных стрессоров, например, боли, психоэмоционального стресса, интенсивных физических нагрузок и т.д., из структур гипоталамуса и лимбической системы головного мозга происходит высвобождение эндогенных опиоидных пептидов (Ю.А. Ковалицкая, Е.В. Наволоцкая, 2011; Е.Н. Anderson, 2013; R.J. Valentino, 2015). Однако, длительное пребывание в состоянии стресса может приводить к истощению

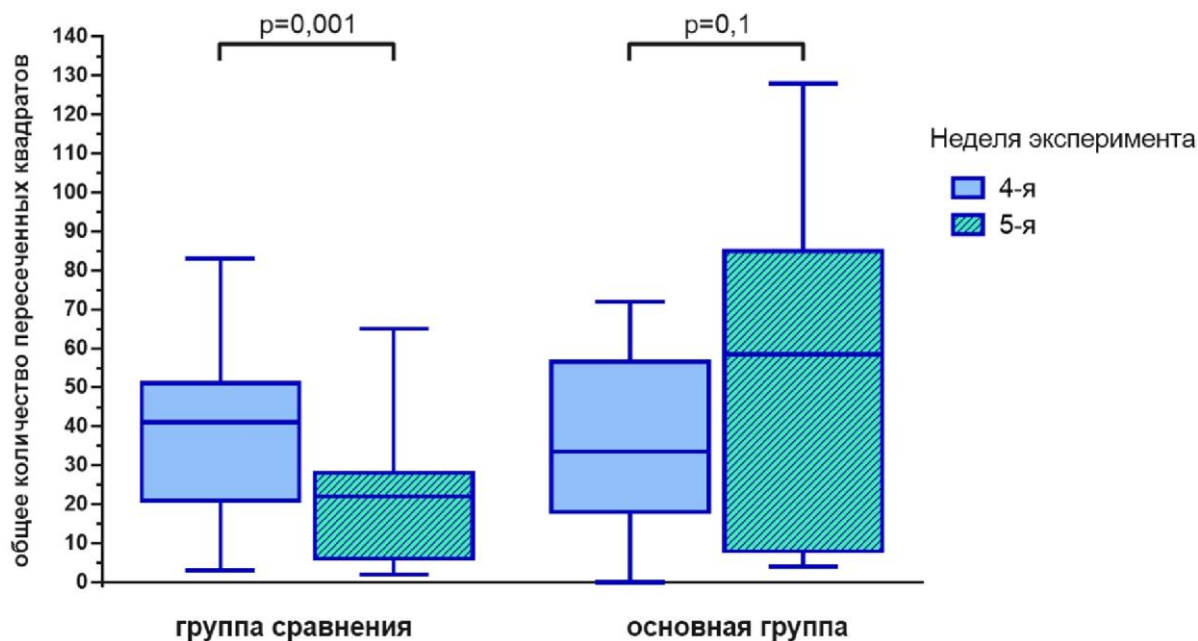
ресурсов эндогенных опиоидных пептидов (Е.В. Снедков, 2012), что может проявляться падением уровня  $\beta$ -эндорфина в плазме крови (А.И. Трофименко, 2014). В настоящем исследовании крысы, подвергавшиеся хронической интоксикации ротеноном и демонстрировавшие в поведенческих тестах признаки развития у них патологического тревогоподобного состояния, имели статистически значимое ( $p = 0,03$ ) падение уровня  $\beta$ -эндорфина (на 39,64 %), чем животные контрольной группы. Это согласуется с данными литературы и свидетельствует о вероятном истощении возможностей опиоидергической системы.

Животные, которые после хронической интоксикации ротеноном получали недельный курс ТЭС-терапии, демонстрировали отличия по ряду параметров от животных, которые после хронической ротеноновой интоксикации воздействию ТЭС-терапии не подвергались. Различалась и динамика их состояния. В тесте «темно-светлая камера» (рисунок 4.1) у крыс группы сравнения на 5-й неделе эксперимента происходило статистически значимое ( $W$ -test,  $p = 0,01$ ) падение времени, проведенного в светлом отсеке установки на 39,66 %, в то время как крысы основной группы после недельного курса ТЭС-терапии смогли сохранить этот показатель на исходном уровне на 5-й неделе эксперимента.

С уровнем горизонтальной активности и его динамикой наблюдалась аналогичная картина. Помимо более высоких показателей, в 2,63 раза, у крыс основной группы, по сравнению с животными группы сравнения, на 5-й неделе ( $MW$ -test,  $p = 0,8$ ), у крыс группы сравнения на 5-й неделе продолжалось статистически значимо ( $W$ -test,  $p = 0,001$ ) падение горизонтальной активности на 46,34 % в сравнении с 4-й неделей. В тоже время, крысы основной группы, после прохождения ТЭС-терапии, не имели статистически значимого ( $W$ -test,  $p = 0,1$ ) снижения общей горизонтальной активности, а наоборот, показали выраженную тенденцию к увеличению значения данного параметра (рисунок 4.2).



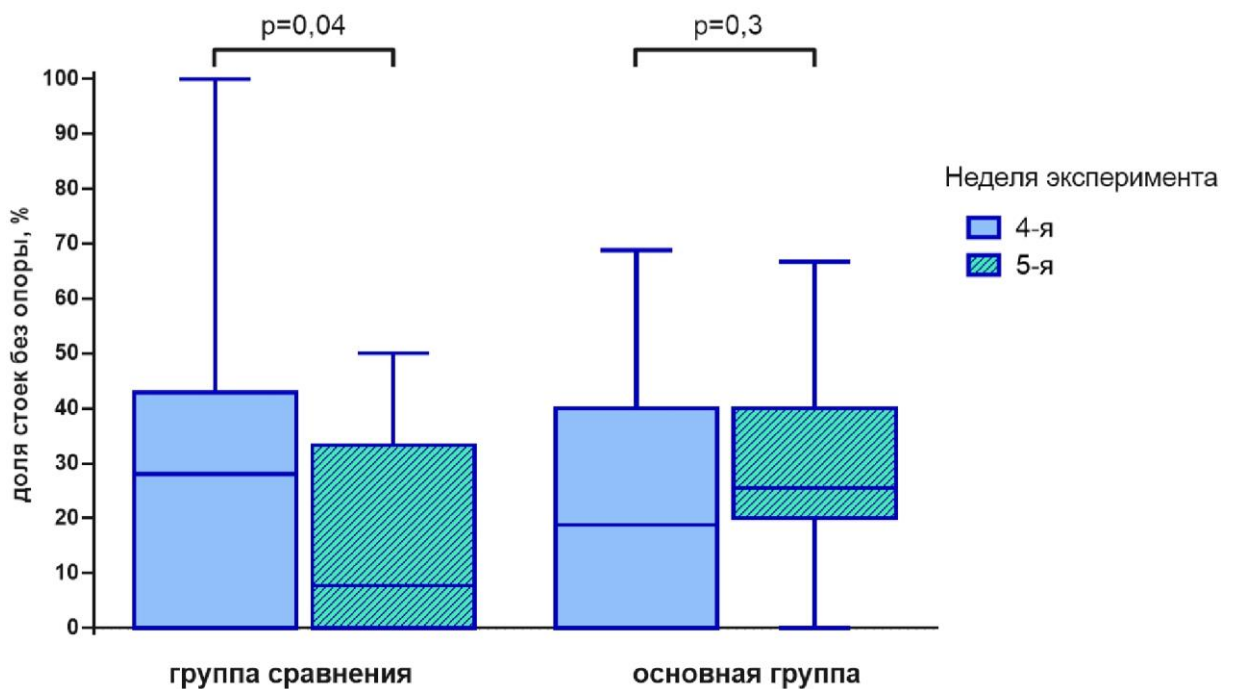
**Рисунок 4.1** – Влияние ТЭС-терапии на динамику времени нахождения крыс группы сравнения и основной группы в светлом отсеке теста «темно-светлая камера», в сек



**Рисунок 4.2** – Влияние ТЭС-терапии на динамику общей горизонтальной активности у крыс группы сравнения и основной группы в тесте «открытое поле», оцениваемую по общему количеству пересеченных животным квадратов

По показателям общей вертикальной активности в тесте «открытое поле» крысы основной группы, после недельного курса ТЭС-терапии, имели статистически значимое (MW-test,  $p = 0,001$ ) увеличение на 450 %, по

сравнению с крысами группы сравнения, не получавшими ТЭС-терапию, что указывает на более низкую выраженность тревогоподобного поведения у данной группы животных. При этом ТЭС-терапия оказывала влияние не только на общее количество стоек с опорой и без опоры в «открытом поле», но и на структуру вертикальной активности (рисунок 4.3). Данный эффект проявился в статистически значимом (MW-test,  $p = 0,01$ ) большем количестве, на 231,17 %, стоек в центре (без опоры) у крыс, прошедших недельный курс ТЭС-терапии, чем у крыс, не подвергавшихся данной процедуре. В динамике данного показателя также имелись различия – в группе сравнения произошло статистически значимое (W-test,  $p = 0,04$ ) падение процентной доли вертикальной активности на 72,5 % на 5-й неделе эксперимента. В то же время, у крыс основной группы после прохождения ТЭС-терапии не произошло уменьшения доли вертикальной активности. Это так же говорит о влиянии транскраниальной электростимуляции на эмоциональное состояние крыс в виде снижения уровня тревожности.



**Рисунок 4.3** – Влияние ТЭС-терапии на динамику доли вертикальной активности в центре от общего уровня вертикальной активности у крыс группы сравнения и основной группы в тесте «открытое поле»

Крысы основной группы, которые получили 7 сеансов ТЭС-терапии после хронического системного введения ротенона, демонстрировали не только уменьшение выраженности тревогоподобного поведения в сравнении с крысами группы сравнения, не подвергавшимися её воздействию, но и имели статистически значимо ( $p = 0,048$ ) более низкий уровень (на 11,58 %) плазменного кортикостерона. По имеющимся литературным данным, снижение уровня плазменного кортикостерона может наблюдаться под воздействием факторов, снижающих выраженность тревогоподобного поведения (L. Zhang et al., 2017). Исходя из вышесказанного, более низкий уровень кортикостерона в плазме крови у животных основной группы, по сравнению с животными из группы сравнения, является биохимическим маркером более низкой выраженности тревожности и психоэмоционального стресса после недельного курса транскраниальной электростимуляции.

У крыс, прошедших через 7 сеансов ТЭС-терапии, отличия так же наблюдались в уровнях плазменного серотонина и дофамина по сравнению с крысами, не получавшими ТЭС-терапии. Так, содержание плазменного серотонина у крыс основной группы было статистически значимо ( $p = 0,01$ ) выше на 13,05 %, чем у крыс из группы сравнения. Содержание дофамина в плазме у крыс основной группы, получавших 7 сеансов ТЭС-терапии, было статистически значимо ( $p = 0,04$ ) выше на 13,23 %, чем у крыс группы сравнения, не подвергавшихся воздействию. Это согласуется с имеющимися данными о способности ТЭС-терапии модулировать работу серотонинергической и дофаминергической систем (О.А. Борисова, Е.А. Беляева, 2015; А.Х. Каде и др., 2017).

Для объяснения наиболее вероятных путей и механизмов вышеописанных влияний воздействия ТЭС-терапии на исследованные паттерны поведения и уровни гормонов и медиаторов у крыс, необходимо уделить особое внимание эффектам  $\beta$ -эндорфина. В настоящем исследовании у крыс основной группы, которые после хронической ротеноновой

интоксикации прошли курс транскраниальной электростимуляции, медиана уровня данного нейропептида в плазме крови была статистически значимо ( $p = 0,04$ ) выше на 56,86 %, чем у крыс группы сравнения, которые были подвергнуты только хронической ротеноновой интоксикации и не получали транскраниальной электростимуляции. Стимуляция процессов выработки и секреции  $\beta$ -эндорфина является одним из основных эффектов ТЭС-терапии, описанным в ряде экспериментальных исследований. Именно с воздействием данного нейропептида на различные опиоидные рецепторы связывают наблюдаемые терапевтические эффекты транскраниальной электростимуляции (V.P. Lebedev, 1997; С.О. Апсалямова, 2013; А.И. Трофименко и др., 2014; В.Д. Левичкин и др., 2014; Е.А. Шигина, О.Н. Кудря, 2019).

$\beta$ -эндорфин является наиболее активным и полифункциональным представителем эндогенных опиоидных пептидов (Ю.Б. Лишманов, Л.Н. Маслов, и др., 2012; В.О. Небогатиков, 2015) – одного из звеньев нейроэндокринной системы (С.В. Гейн, Т.А. Баева, 2019). По своему химическому происхождению является продуктом расщепления проопиомеланокортина (В.Е. Милуков, А.В. Богданов, 2018; С.В. Гейн, Т.А. Баева, 2019). Принимая участие в работе опиоидергического звена стресс-лимитирующей системы,  $\beta$ -эндорфин оказывает тормозящее воздействие на активность гипоталамо-гипофизарной оси и способен напрямую воздействовать на саму кору надпочечников (С.В. Гейн, Т.А. Баева, 2019). Влиянием  $\beta$ -эндорфина на работу гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси, заключающимся в способности опиоидных пептидов снижать секрецию повышающихся при стрессе гормонов (Ю.Б. Лишманов, Л.Н. Маслов, 2012), может объясняться то, что крысы основной группы, получавшие ТЭС-терапию и имевшие более высокий, чем у крыс группы сравнения, уровень  $\beta$ -эндорфина, демонстрировали более низкий, чем у животных группы сравнения, уровень

кортикостерона в плазме крови. Кроме того,  $\beta$ -эндорфин сам по себе обладает анксиолитическим действием, снижая уровни тревоги и депрессии, модулируя стресс-ассоциированное поведение (A. Bali et al., 2015). ТЭС-терапия обладает антиоксидантным эффектом, который обусловлен антиоксидантными свойствами самих эндогенных опиоидных пептидов, в том числе,  $\beta$ -эндорфина (В.Д. Левичкин и др., 2014; А.В. Солин, Ю.Д. Ляшев, 2016). Данный эффект так же может быть одним из возможных элементов вероятного механизма выявленной способности ТЭС-терапии влиять на тревогоподобное поведение крыс, приводя к уменьшению его выраженности.

Как было описано ранее, оксидативный стресс, вызванный повреждением митохондрий под воздействием ротенона, способен оказывать влияние на психоэмоциональный статус крыс, приводя к развитию у них патологического тревогоподобного состояния. При оценке как моторных показателей крыс (вис на горизонтальной перекладине), так и их поведения в тестах «открытое поле» и «темно-светлая камера», обращает на себя внимание тот факт, что состояние крыс группы сравнения, подвергнутых ротеноновой интоксикации и не получавших ТЭС, ухудшается даже через неделю после прекращения введения ротенона, что наглядно демонстрируется на рисунках 4.1, 4.2 и 4.3 и говорит о возможном продолжении нейродегенеративных процессов, вероятно, из-за постепенного истощения компенсаторных возможностей малого количества оставшихся дофаминовых нейронов и запуска порочных кругов, связанных с развитием нейродегенеративных процессов, оксидативного стресса и развитием патологического тревогоподобного состояния. Лучшая сохранность морфологической структуры черной субстанции у крыс основной группы, после курса ТЭС-терапии, вероятно, может быть связана с замедлением их разрушения, вследствие того, что антиоксидантные эффекты ТЭС-терапии предохраняют их от развивающегося оксидативного стресса и возможно потенцируют работу оставшихся клеток и сохранившихся компенсаторных



механизмов. Благодаря антиоксидантному эффекту ТЭС, может происходить снижение продолжающегося токсического действия ротенона на митохондрии нервных клеток, а также уменьшение повреждающего действия свободных радикалов, образующихся как из-за ингибирования митохондриального комплекса I, на нейроны и из-за неферментативного окисления дофамина в везикулах, вызванного деполимеризацией микротрубочек, приводящей к нарушению везикулярного транспорта. Возможным подтверждением предположения о вкладе антиоксидантного эффекта ТЭС в снижение выраженности тревогоподобного состояния у крыс может быть тот факт, что применение веществ, обладающих антиоксидантной активностью способно снижать уровень патологической тревожности в эксперименте (M. Nussbaumer et al., 2016; T. Afsar et al., 2017; H. Vecerril-Chávez et al., 2017; M. Chen et al., 2019).

Еще одним потенциальным фактором, обеспечивающим наблюдаемую способность ТЭС-терапии корректировать патологические тревогоподобные состояния у крыс, может быть модуляция работы дофаминергического, холинергического и серотонинергического механизмов нейроиммунноэндокринной системы (А.Х. Каде и др., 2017), имеющая гомеостатический характер (А.И. Трофименко, А.Х. Каде и др., 2018). Такой характер воздействия может оптимизировать работу имеющихся компенсаторных механизмов организма при паркинсонизме (Г.Р. Хакимова и др., 2011).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты настоящего исследования позволяют расширить и дополнить представления о механизмах формирования тревожных состояний, как психоэмоциональных нарушений, сопутствующих нейродегенеративным заболеваниям центральной нервной системы. У подвергнутых хронической ротеноновой интоксикации животных развиваются не только моторные симптомы паркинсонизма, но также в поведенческих тестах появляются выраженные паттерны тревогоподобного поведения. У животных в патологическом тревогоподобном состоянии снижается уровень исследовательской активности и начинает преобладать поведение, направленное на избегание потенциальных источников опасности. Описанные поведенческие изменения прогрессируют даже в течение недели после завершения введения нейротоксина, сочетаясь со сниженным уровнем плазменного дофамина, серотонина и  $\beta$ -эндорфина, а также с повышенным уровнем плазменного кортикостерона, относительно крыс, не подвергнутых воздействию ротенона и не демонстрировавших тревогоподобного поведения.

Применение ТЭС-терапии оказывает анксиолитическое действие, снижая выраженность тревогоподобного поведения у крыс, подвергнутых ротеноновой интоксикации. Кроме того, применение ТЭС-терапии предотвращает нарастание выраженности паттернов тревогоподобного поведения. Обладая гомеостатическим эффектом, ТЭС-терапия нормализует уровни плазменного дофамина и серотонина, а также, снижает уровень плазменного кортикостерона, воздействуя на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему. Повышение уровня плазменного  $\beta$ -эндорфина у крыс после ТЭС-терапии демонстрирует воздействие данной процедуры на опиоидергическую систему. Таким образом, можно сделать заключение, что ТЭС-терапия представляет интерес в качестве не медикаментозного способа коррекции патологических тревогоподобных состояний, обладая выраженным анксиолитическим и гомеостатическим эффектом.

## ВЫВОДЫ

1. После проведения семидневного курса ТЭС-терапии у крыс с патологическим тревогоподобным состоянием, сформированным хронической интоксикацией ротеноном, наблюдается снижение выраженности тревогоподобного поведения, отмеченного в тесте «открытое поле» и в тесте «темно-светлая камера».

2. Семидневный курс ТЭС-терапии у крыс с хроническим ротенон-индуцированным паркинсонизмом обеспечивает (MW-test,  $p = 0,048$ ) лучшую на 30 % сохранность нейронов черной субстанции, что свидетельствует о меньшей выраженности дегенеративно-дистрофических изменений.

3. Под влиянием семидневного курса ТЭС-терапии у крыс с хроническим ротенон-индуцированным паркинсонизмом наблюдается уменьшение моторного дефицита, проявляющееся в снижении на 40,0 % его индивидуальных суммированных баллов и увеличение на 355,0 % времени виса на горизонтальной перекладине относительно группы сравнения.

4. Применение ТЭС-терапии нормализует уровень плазменного кортикостерона (снижение на 11,58 % относительно группы сравнения), серотонина (увеличение на 13,05 %, относительно крыс группы сравнения), дофамина (на 13,23 % выше, чем у крыс группы сравнения).

5. Проведение курса ТЭС-терапии приводит к статистически значимому (MW-test,  $p = 0,04$ ) увеличению уровня плазменного  $\beta$ -эндорфина на 56,86 % относительно группы сравнения.

6. Полученные результаты свидетельствуют о возможности применения ТЭС-терапии в качестве немедикаментозного метода коррекции патологических тревогоподобных состояний у крыс, сформированных хронической интоксикаций ротеноном.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для определения уровня выраженности тревогоподобного поведения у крыс с моделью ротенон-индуцированного паркинсонизма можно использовать поведенческие тесты без предварительного обусловливания – «тест открытого поля» (open-field test) и тест «темно-светлая камера» (light-dark box test). Токсическую модель ротенон-индуцированного паркинсонизма можно использовать для изучения возможных механизмов патологических тревогоподобных состояний как одного из элементов сопутствующих расстройств немоторного характера при нейродегенеративных заболеваниях, в частности – паркинсонизме.

2. Для дальнейшего изучения анксиолитического эффекта ТЭС-терапии рекомендуется изучить её влияние на других моделях тревожных расстройств у разных животных.

3. Для использования ТЭС-терапии в качестве немедикаментозного метода коррекции тревожных состояний на фоне нейродегенеративных заболеваний, в частности – паркинсонизма рекомендуется проведение доклинических испытаний.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Абриталин Е.Ю., Александровский Ю.А., Ананьева Н.И., и др. Психиатрия: Национальное Руководство. 2-е изд., перераб. и доп. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2018. – 1008 с.

2. Амикишиева А.В. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование // Вестник ВОГиС. – 2009. – Т. 13. – № 3. – С. 529–542.

3. Апсалямова С.О. Оптимизация лечения инфаркта миокарда с использованием ТЭС-терапии (экспериментальное исследование) : автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Краснодар, 2013. – 22 с.

4. Бирюкова Е.В., Мосолов С.Н. Прогноз эффективности нейрофидбека у больных тревожными расстройствами, резистентными к психофармакотерапии // Социальная и клиническая психиатрия. – 2011. – Т. 21. – № 2.

5. Боголепова А.Н., Коваленко Е.А., Махнович Е.В. Современные подходы к терапии тревожных расстройств у пациентов пожилого возраста // Медицинский совет. – 2017. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-0-60-64

6. Болотова В.Ц., Крауз В.А., Шустов Е.Б. Биологическая модель экспериментального невроза у лабораторных животных // Биомедицина. – 2015. – № 1. – С. 66–80.

7. Борисова О.А., Беляева Е.А. Транскраниальная электростимуляция в восстановительном лечении ревматоидного артрита (научный обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2015. – № 3. – Публикация 8-1. – URL : <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-3/5234.pdf> (дата обращения: 03.12.2019). DOI: 10.12737/13367

8. Булатова Т.А., Черных Е.И. Социальная тревожность в контексте психологических защит // Вестник Томского государственного педагогического университета. – 2010. – Т. 92. – № 2. – С. 107–112.

9. Вербицкий Е.В. Тревожность и сон // Журнал высшей нервной деятельности. – 2013. – Т. 63. – № 1. – С. 6–12.

10. Воронков Д.Н., Дикалова Ю.В., Худоерков Р.М., Ямщикова Н.Г. Изменения в нигростриатных образованиях мозга при моделировании паркинсонизма, индуцированного ротеноном (количественное иммуноморфологическое исследование) // Анналы клинической и экспериментальной неврологии. – 2013. – № 7(2). – С. 34–38.

11. Воскресенская Е.В., Мельник Е.В., Кухтова Н.В. Психология страха и тревоги в спортивной деятельности (теория и практика): методические рекомендации. – Витебск : ВГУ имени П.М. Машерова, 2015. – 53 с.

12. Гейн С.В., Баева Т.А. Опиоидные пептиды в регуляции секреторной активности макрофагов перитонеальной полости мышей при стрессе // Вестник Пермского университета. Серия «Биология» = Bulletin of Perm University. Biology. – 2019. – № 1. – С. 109–115.

13. Занин С.А., Каде А.Х., Кадомцев Д.В., Пасечникова Е.А., Голубев В.Г., Плотникова В.В., Шаров М.А., Азаркин Е.В., Кочарян В.Э. ТЭС-терапия. Современное состояние проблемы // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 1. – С. 58–58.

14. Игнатова Ю.А., Соловьев А.Г., Новикова И.А. Биопсихосоциальные факторы риска тревожных расстройств // Вестник психотерапии. – 2018. – № 67. – С. 18–32.

15. Иллариошкин С.Н. Современные представления об этиологии болезни Паркинсона // Неврологический журнал. – 2015. – Т.20. – № 4. – С. 4–13.

16. Каде А.Х., Поляков П.П., Липатова А.С., Сотниченко А.С., Куевда Е.В., Губарева Е.А., Вчерашнюк С.П. Возможности коррекции нарушений стресс-индуцированной экспрессии *c-fos* нейронами паравентрикулярного ядра гипоталамуса ТЭС-терапией // Актуальные

направления фундаментальных и прикладных исследований. – 2017. – С. 66–68.

17. Каде А.Х., Поляков П.П., Липатова А.С., Сотниченко А.С., Куевда Е.В., Губарева Е.А. Характер экспрессии *c-fos* нейронами медиальной префронтальной коры в условиях комбинированного стресса и влияния ТЭС-терапии // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 5. – С. 86–86.

18. Калуев А.В. Изучение тревожности у животных – вчера, сегодня, завтра // Стресс и поведение: материалы 7-й междисциплинарной конф. по биологической психиатрии. – М., 2003. – С. 145–148.

19. Караваева Т.А., Васильева А.В., Полторац С.В. Принципы и алгоритмы психотерапии тревожных расстройств невротического уровня (тревожно-фобических, панического и генерализованного тревожного расстройств) // Обзорение психиатрии и медицинской психологии имени В.М. Бехтерева. – 2016. – № . 4. – С. 42–51.

20. Караваева Т.А., Васильева А.В., Полторац С.В., Колесова Ю.П. Принципы и алгоритмы психофармакологического лечения тревожных расстройств невротического уровня (тревожно-фобических, панического и генерализованного тревожного расстройств) // Обзорение психиатрии и медицинской психологии имени В.М. Бехтерева. – 2016. – № . 1. – С. 3–9.

21. Каркищенко В.Н., Фокин Ю.В., Казахова Л.Х., Алимкина О.В., Касинская Н.В. Методики изучения физиологических функций лабораторных животных для доклинических исследований в спортивной медицине // Биомедицина. – 2012. – № 4. – С. 15–21.

22. Касимова Л.Н., Святогор М.В., Смиренский Е.А. Социально-демографические и клинические факторы риска развития депрессивных расстройств у студентов медицинского вуза // Медицинский альманах. – 2018. – № 5. – С. 185–188.

23. Ковалицкая Ю.А., Наволоцкая Е.В. Неопиоидное действие? эндорфина (обзор) // Биохимия. – 2011. – Т. 76. – № . 4. – С. 469–486.

24. Корнюхина Е.Ю., Черникова Л.А., Иванова-Смоленская И.А., Карабанов А.В., Федин П.А. Воздействие транскраниальной электростимуляции на эмоционально-волевые расстройства и когнитивные нарушения при болезни Паркинсона // Транскраниальная электростимуляция. Экспериментально-клинические исследования. Сборник статей. – 2009. – С. 21–28.

25. Курьянова Е.В., Укад А.С., Жукова Ю.Д. Половые и типологические различия поведенческой активности нелинейных крыс в тесте «Открытое поле» // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 5. – С. 460–460.

26. Левичкин В.Д., Трофименко А.И., Каде А.Х., Павлюченко И.И., Занин С.А. Коррекция показателей прооксидантно-антиоксидантной системы при ишемическом инсульте ТЭС-терапией // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 4. – С. 342–342.

27. Липатова А.С. Коррекция стресс-индуцированных нарушений эндокринного и цитокинового статуса у крыс с различной стрессоустойчивостью ТЭС-терапией: экспериментальное исследование : дис. ... канд. мед. наук / Куб. гос. мед. ун-т. – Краснодар, 2019. – URL : [http://www.ksma.ru/cms/files/dissertacii\\_lipatova.pdf](http://www.ksma.ru/cms/files/dissertacii_lipatova.pdf)

28. Липатова А.С., Каде А.Х., Трофименко А.И., Поляков П.П. Коррекция стресс-индуцированных нейроиммуноэндокринных нарушений у самцов крыс с низкой устойчивостью к стрессу применением транскраниальной электростимуляции // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2018. – № 3. – С. 58–68. DOI: 10.21626/vestnik/2018-3/09

29. Липатова А.С., Поляков П.П., Каде А.Х., Трофименко А.И., Кравченко С.В. Влияние транскраниальной электростимуляции на выносливость крыс с разной устойчивостью к стрессу // Биомедицина. – 2018. – № 1. – С. 84–91.



30. Липатова А.С., Поляков П.П., Каде А.Х., Занин С.А., Трофименко А.И., Малышева Т.В. Модификация методики ТЭС-терапии для ее применения у мелких лабораторных грызунов // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. – С. 347. – URL : <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id = 22696> (дата обращения: 22.09.2019).

31. Ломтева Н.А., Касимова С.К., Кондратенко Е.И. Зависимость поведения и уровня тревожности от пола и гормонального статуса крыс // Проблемы репродукции. – 2013. – № 3. – С. 18–21.

32. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Нарыжная А.В., Жан-Минг П., Франтишек К., Жанг И. и др. Эндогенная опиоидная система как звено срочной и долговременной адаптации организма к экстремальным воздействиям. Перспективы клинического применения опиоидных пептидов // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – Т. 67. – № 6. – С. 73–82.

33. Малиновская Н.А., Гасымлы Э.Д., Баглаева О.В., Базарова А.С., Пищиков О.В. Экспериментальные ротеноновые модели болезни Паркинсона на крысах // Научные труды SWorld. – 2012. – № 43(4). – С. 57–61.

34. Малиновская Н.А., Моргун А.В., Панина Ю.А., Комлева Ю.К. Крысиные ротеноновые модели болезни Паркинсона (обзор литературы) // Научные труды SWorld. – 2012. – Т. 43. – № 4. – С. 77–86.

35. Милюков В.Е., Богданов А.В. Роль надпочечников в механизмах стрессорного влияния на патогенез развития осложнений при острой тонкокишечной непроходимости (обзор) // Новости хирургии. – 2018. – Т. 26. – № 3. doi: 10.18484/2305-0047.2018.3.366

36. Моор Л.В., Рахмазова Л.Д. Социально-демографический портрет стационарной когорты больных с тревожно-фобическими расстройствами // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 5. – URL : <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id = 28076> (дата обращения: 15.12.2019).

37. Моргачева Т.В. Алгоритмы диагностики тревожных расстройств невротического уровня (панического, генерализованного тревожного и тревожно-фобических расстройств): методические рекомендации / НМИЦ ПН им. В.М. Бехтерева; авторы-сост.: Караваева Т.А., Васильева А.В., Мизинова Е.Б., Белан Р.М., Моргачева Т.В., Гужева О.Б. – СПб., 2018. – 40 с.

38. Мосолов С.Н. Тревожные и депрессивные расстройства: коморбидность и терапия. – М. : АртинфоПублишинг, 2007. – 63 с.

39. Мосолов С.Н., Алфимов П.В. Алгоритм биологической терапии генерализованного тревожного расстройства // Современная терапия психических расстройств. – 2015. – № 2. – С. 24–28.

40. Небогатиков В.О.  $\beta$ -эндорфин в регуляции функций клеток адаптивного и врождённого иммунитета *in vivo* : автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Челябинск, 2015. – 23 с.

41. Незнанов Н.Г., Мартынихин И.А., Мосолов С.Н. Диагностика и терапия тревожных расстройств в Российской Федерации: результаты опроса врачей-психиатров // Современная терапия психических расстройств. – 2017. – № 2. – С. 2–15.

42. Пермяков А.А., Елисеева Е.В., Юдицкий А.Д., Исакова Л.С. Поведенческие реакции у экспериментальных животных с различной прогностической устойчивостью к стрессу в тесте «открытое поле» // Вестник Удмуртского университета. Серия «Биология. Науки о Земле». – 2013. – № 3. – С. 83–90.

43. Поляков П.П. Коррекция стресс-индуцированных нарушений активации генов раннего ответа у крыс : дис. ... канд. мед. наук / Куб. гос. мед. ун-т. – Краснодар, 2018. – 151 с.

44. Пятикоп В.А., Щегельская Е.А., Горбач Т.В., Микулинский Ю.Е., Киروشка В.В. Динамика изменений уровня дофамина в головном мозге и крови крыс с моделью паркинсонизма после трансплантации клеток стромы

костного мозга, индуцированных в нейробласты // Проблемы криобиологии и криомедицины. – 2005. – № 3. – С. 452–454.

45. Ракитская Н.Ю. Эволюция диагностических и терапевтических подходов к тревожным и депрессивным расстройствам // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2009. – № 3. – С. 88–91.

46. Ретюнский К.Ю., Кубланов В.С., Петренко Т.С., Федотовских А.В. Новый метод терапии корсаковского (амнестического) психоза: нейростимуляция в виде симпатокоррекции // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски. – 2015. – Т. 115. – № 4. – С. 3–8. DOI: 10.17116/jnevro2015115423-8

47. Снедков Е.В. Конверсионные расстройства при взрывных контузиях // Профилактическая и клиническая медицина. – 2012. – № 2. – С. 110–117.

48. Солин А.В., Ляшев Ю.Д. Влияние опиоидных пептидов на стресс-индуцированные изменения в ткани печени у животных различных типологических групп // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2016. – Т. 36. – № 26(247). – С. 120–125.

49. Таппахов А.А., Николаева Т.Я. Современные представления об этиологии и патогенезе болезни Паркинсона (обзор) // Вестник Северо-Восточного федерального университета им. М.К. Аммосова. Серия: Медицинские науки. – 2016. – № 2 (3). – С. 19–27.

50. Ткачева Е.С., Медведева Л.А., Чурюканов М.В. Сравнительная оценка уровня серотонина и катехоламинов в сыворотке крови у пациентов с хронической головной болью напряжения и тревожно-депрессивным расстройством // Российский журнал боли. – 2016. – № 3–4. – С. 16–20.

51. Троицкий М.С., Токарев А.Р., Панышина М.В. Возможности немедикаментозной и лекарственной терапии тревожных расстройств (обзор литературы) // Вестник новых медицинских технологий. – 2018. – Т. 25. – № 1. – С. 61–70. DOI: 10/24411/1609-2163-2018-15995

52. Трофименко А.И., Каде А.Х., Нехай Ф.А., Лебедев В.П., Левичкин В.Д., Занин С.А. Динамика уровня  $\beta$ -эндорфина при моделировании ишемического инсульта у крыс // Кубанский научный медицинский вестник. – 2014. – № 3(145). – С. 115–118.

53. Трофименко А.И., Нехай Ф.А., Каде А.Х., Занин С.А. Динамика цитокинового статуса и уровня  $\beta$ -эндорфина у больных с ишемическим инсультом при применении ТЭС-терапии // Кубанский научный медицинский вестник. – 2015. – № 6 (155). – С.147–150

54. Хакимова Г.Р., Козина Е.А., Сапронова А.Я., Угрюмов М.В. Выделение дофамина в черной субстанции и стриатуме на досимптомной и ранней симптомной стадиях паркинсонизма у мышей // Нейрохимия. – 2011. – Т. 28. – № 1. – С. 42–48.

55. Худякова Н.А. Влияние циклогексамина на активность мышей линии BALB в условиях суок-теста и теста «решетка» // Вестник Удмуртского университета. – 2014. – № 4. – С. 67–71.

56. Чепелюк А.А., Виноградова М.Г., Коваленок Т.В., Дорофеева О.А., Метлина М.В., Незнамов Г.Г. Особенности когнитивных процессов у больных с различной структурой тревожных расстройств // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2018. – Т. 118. – № 3. – С. 4–9. DOI: 10.17116/jnevro2018118314-9

57. Шейдер Р. Психиатрия / Пер. с англ. – М. : «Практика», 1998. – 485 с.

58. Шигина Е.А., Кудря О.Н. Восстановление показателей сердечно-сосудистой системы спортсменов под воздействием транскраниальной электростимуляции // Научно-спортивный вестник Урала и Сибири. – 2019. – № 4(24). – С. 30–33.

59. Яковлева Т.В., Каракулова Ю.В., Демчук Н.Д. Особенности гуморальной серотониновой системы и немоторные проявления при болезни Паркинсона // Медицинский альманах. – 2017. – № 5(50). – С. 83–86.

60. Якупов Э.З., Трошина Ю.В. Тревога, депрессия и инсомния–единство или автономность функциональных расстройств // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2016. – Т. 116. – № 5. – С. 119–124. DOI: 10.17116/jnevro201611651119-124

61. Яхно Н.Н., Штульман Д.Р., Мельничук П.В. Болезни нервной системы. – М. : Медицина, 2001. – 656 с.

62. Abdelkader N.F., Arafa N.M., Attia A.S., Ain-Shoka A.A., Abdallah D.M. Pyrrolidine dithiocarbamate ameliorates rotenone-induced Parkinson's disease in rats // Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University. – 2017. – № 55(1). – P. 107–113. – URL : <https://doi.org/10.1016/j.bfopcu.2016.11.003>

63. Adebisi O.E., Olopade F.E., Olopade J.O., Olayemi F.O. Behavioural studies on the ethanol leaf extract of *Grewia carpinifolia* in Wistar rats // African health sciences. – 2016. – V. 16. – № 1. – P. 339–346.

64. Alam M., Schmidt W.J. Mitochondrial complex I inhibition depletes plasma testosterone in the rotenone model of Parkinson's disease // Physiology & behavior. – 2004. – V. 83. – № 3. – P. 395–400.

65. Allen J., Romay-Tallon R., Brymer K., Caruncho H.J., & Kalynchuk L.E. Mitochondria and mood: Mitochondrial dysfunction as a key player in the manifestation of depression // Frontiers in neuroscience. – 2018. – V. 12. – P. 386.

66. Anderson E.H. Effects of exercise and physical activity on anxiety / E.H. Anderson, G. Shivakumar // Frontiers in Psychiatry. – 2013. – Vol. 4. – Art. 27. DOI: 10.3389/fpsy.2013.00027

67. Antal A., & Paulus W. Transcranial alternating current stimulation (tACS) // Frontiers in Human Neuroscience. – 2013. – V. 7. – Art. ID 317.

68. Afsar T., Razak S., Khan M.R., & Almajwal A. Anti-depressant and anxiolytic potential of *Acacia hydaspica* R. Parker aerial parts extract: modulation of brain antioxidant enzyme status // BMC complementary and alternative medicine. – 2017. – V. 17. – № 1. – P. 228. DOI:10.1186/s12906-017-1671-x

69. Bali A., Randhawa P.K., Jaggi A.S. Stress and opioids: role of opioids in modulating stress-related behavior and effect of stress on morphine conditioned place preference // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 2015. – V. 51. – P. 138–150.

70. Becerril-Chávez H., Colín-González A.L., Villeda-Hernández J., Galván-Arzate S., Chavarría A., de Lima M.E., Túnez I., Santamaría A. Protective effects of S-allyl cysteine on behavioral, morphological and biochemical alterations in rats subjected to chronic restraint stress: antioxidant and anxiolytic effects // *Journal of functional foods*. – 2017. – V. 35. – P. 105–114. DOI: 10.1016/j.jff.2017.05.034

71. Belovicova K., Bögi E., Csatlosova K., Dubovický M. Animal tests for anxiety-like and depression-like behavior in rats // *Interdisciplinary Toxicology*. – 2017. – № 10(1). – P. 40–43. doi: 10.1515/intox-2017-0006

72. Belzung C., Philippot P. Anxiety from a phylogenetic perspective: is there a qualitative difference between human and animal anxiety? // *Neural plasticity*. – 2007. – V. 2007. – Article ID 59676.

73. Bhurtel S., Katila N., Srivastav S., Neupane S., Choi D.Y. Mechanistic comparison between MPTP and rotenone neurotoxicity in mice // *Neurotoxicology*. – 2019. – V. 71. – P. 113–121. DOI: 10.1016/j.neuro.2018.12.009

74. Bonito-Oliva A., Masini D., Fisone G. A mouse model of non-motor symptoms in Parkinson's disease: focus on pharmacological interventions targeting affective dysfunctions // *Frontiers in behavioral neuroscience*. – 2014. – № 8. – P. 290. – URL : <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2014.00290>

75. Bose A., Beal M.F. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease // *Journal of Neurochemistry*. – 2016. – № 139. – P. 216–231. – URL : <https://doi.org/10.1111/jnc.13731>

76. Bourin M., Hascoet M. The mouse light/dark box test // *European*

Journal of Pharmacology. – 2003. – № 463(1–3). – P. 55–65. doi: 10.1016/S0014-2999(03)01274-3

77. Bouter Y., Brzózka M.M., Rygula R., Pahlisch F., Leweke F.M., Havemann-Reinecke U., Rohleder C. Chronic Psychosocial Stress Causes Increased Anxiety-Like Behavior and Alters Endocannabinoid Levels in the Brain of C57Bl/6J Mice // *Cannabis and Cannabinoid Research*. – Online Ahead of Print: November 13, 2019. DOI: 10.1089/can.2019.0041

78. Broen M.P.G., Narayan N.E., Kuijf M.L., Dissanayaka N.N., Leentjens A.F. Prevalence of anxiety in Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis // *Movement Disorders*. – 2016. – V. 31. – № 8. – P. 1125–1133. DOI: 10.1002/mds.26643

79. Burn C.C. What is it like to be a rat? Rat sensory perception and its implications for experimental design and rat welfare // *Applied Animal Behaviour Science*. – 2008. – № 112(1–2). – P. 1–32. doi: 10.1016/j.applanim.2008.02.007

80. Campos F.L., Carvalho M.M., Cristovão A.C., Je G., Baltazar G., Salgado A.J., Kim Y-S., Sousa N. Rodent models of Parkinson's disease: beyond the motor symptomatology // *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. – 2013. – № 7. – P. 175. – URL : <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2013.00175>

81. Casarrubea M., Di Giovanni G., Crescimanno G., Rosa I., Aiello S., Di Censo D., Ranieri B., Santangelo A., Busatta D., Cassioli E., Galante A., Aleccic M., Florio M.T. Effects of Substantia Nigra pars compacta lesion on the behavioral sequencing in the 6-OHDA model of Parkinson's disease // *Behavioural brain research*. – 2019. – № 362. – P. 28–35.

82. Carpenter J.K., Andrews L.A., Witcraft S.M., Powers M.B., Smits J.A., & Hofmann S.G. Cognitive behavioral therapy for anxiety and related disorders: A meta-analysis of randomized placebo-controlled trials // *Depression and anxiety*. – 2018. – V. 35. – № 6. – P. 502–514. DOI: 10.1002/da.22728

83. de Castro Chaves R., Mallmann A.S.V., Oliveira N.F., Oliveira I.C.M., Capibaribe V.C.C., da Silva D.M.A., Lopes I.S., Valentim J.T.,

de Carvalho A.M.R., Macêdo D.S., Vasconcelos S.M.M., Gutierrez S.J.C., Filho J.M.B., de Sousa F.C.F. Reversal effect of Riparin IV in depression and anxiety caused by corticosterone chronic administration in mice // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 2019. – V. 180. – P. 44–51.

84. Chagas M.H.N., Oliveira T.H.G., Linares I.M., Balarini F.B., Chagas N.M.S., Tumas V., Crippa J.A.S. Can anxiety increase tremors in patients with Parkinson's disease? An experimental model // *Archives of Clinical Psychiatry (São Paulo)*. – 2017. – Vol. 44(4). – P. 85–88. DOI: 10.1590/0101-60830000000126

85. Chen M., Pritchard C., Fortune D., Kodi P., Grados M. Hydrogen sulfide: a target to modulate oxidative stress and neuroplasticity for the treatment of pathological anxiety // *Expert review of neurotherapeutics*. – 2019. – P. 1–13. DOI: 10.1080/14737175.2019.1668270

86. Chernivec E., Cooper J., Naylor K. Exploring the Effect of Rotenone—A Known Inducer of Parkinson's Disease—On Mitochondrial Dynamics in *Dictyostelium discoideum* // *Cells*. – 2018. – № 7(11). – P. 201. – URL : <https://doi.org/10.3390/cells7110201>

87. Costa G., Pinna A., Porceddu P.F., Casu M.A., Di Maio A., Napolitano F., Usiello A., Morelli M. Rhes counteracts dopamine neuron degeneration and neuroinflammation depending on gender and age // *Frontiers in aging neuroscience*. – 2018. – V. 10. – P. 163. DOI: 10.3389/fnagi.2018.00163

88. Crawley J., Goodwin F.K. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 1980. – V. 13. – № 2. – P. 167–170.

89. Crippa J.A.S., Hallak J.E., Zuardi A.W., Guimarães F.S., Tumas V., dos Santos R.G. Is cannabidiol the ideal drug to treat non-motor Parkinson's disease symptoms? // *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*. – 2019. – V. 269. – № 1. – P. 121–133. DOI: 10.1007/s00406-019-00982-6

90. Dennison O., Gao J., Lim L.W., Stagg C.J., Aquili L. Catecholaminergic modulation of indices of cognitive flexibility: A pharmaco-tDCS study // *Brain*



stimulation. – 2019. – V. 12. – № 2. – P. 290–295. DOI: 10.1002/14651858.CD009760.pub4

91. Ennaceur A., Chazot P.L. Preclinical animal anxiety research – flaws and prejudices // *Pharmacology Research & Perspectives*. – 2016. – № 4(2). – P. 1–37. doi: 10.1002/prp2.223

92. Eskow Jaunarajs K.L., Angoa-Perez M., Kuhn D.M., Bishop C. Potential mechanisms underlying anxiety and depression in Parkinson's disease: consequences of l-DOPA treatment // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 2011. – V. 35. – № 3. – P. 556–564.

93. Faivre F. Joshi A., Bezard E., Barrot M. The hidden side of Parkinson's disease: studying pain, anxiety and depression in animal models // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 2018. – V. 96. – P. 335–352. DOI: 10.1016/j.neubiorev.2018.10.004

94. Faravelli C., Lo Sauro C., Lelli L., Pietrini F., Lazzeretti L., Godini L., Benni L., Fioravanti G., Talamba G.A., Castellini G., Ricca V. The role of life events and HPA axis in anxiety disorders: a review // *Current pharmaceutical design*. – 2012. – V. 18. – № 35. – P. 5663.

95. Ferreira T., Rasband W. ImageJ user guide // *ImageJ/Fiji*. – 2012. – V. 1. – P. 155–161.

96. Ferrucci R., Cortese F., Bianchi M., Pittera D., Turrone R., Bocci T., Di Fonzo A. Cerebellar and motor cortical transcranial stimulation decrease levodopa-induced dyskinesias in Parkinson's disease // *The Cerebellum*. – 2016. – № 15(1). – P. 43–47. – URL : <https://doi.org/10.1007/s12311-015-0737-x>

97. Fiedorczuk K., Letts J.A., Degliesposti G., Kaszuba K., Skehel M., Sazanov L.A. Atomic structure of the entire mammalian mitochondrial complex I // *Nature*. – 2016. – V. 538. – № 7625. – P. 406. DOI: 10.1038/nature19794

98. Fregni F., Nitsche M. A., Loo C.K., Brunoni A.R., Marangolo P., Leite J., Simis M. Regulatory considerations for the clinical and research use of

transcranial direct current stimulation (tDCS): review and recommendations from an expert panel // *Clinical research and regulatory affairs*. – 2015. – № 32(1). – P. 22–35.

99. Giorgi O., De Montis G., Porceddu M.L., Mele S., Calderini G., Toffano G., Biggio G. Developmental and age-related changes in D1-dopamine receptors and dopamine content in the rat striatum // *Developmental Brain Research*. – 1987. – V. 35. – № 2. – P. 283–290.

100. Gomaa A.M.S., Galal H.M., Abou-Elgait A.T. Neuroprotective effects of melatonin administration against chronic immobilization stress in rats // *International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology*. – 2017. – V. 9. – № 2. – P. 16.

101. Grisel J.E., Bartels J.L., Allen S.A., & Turgeon V.L. Influence of  $\beta$ -endorphin on anxious behavior in mice: interaction with EtOH // *Psychopharmacology*. – 2008. – V. 200. – № 1. – P. 105–115.

102. Guleyupoglu B., Schestatsky P., Edwards D., Fregni F., Bikson M. Classification of methods in transcranial electrical stimulation (tES) and evolving strategy from historical approaches to contemporary innovations // *Journal of neuroscience methods*. – 2013. – № 219(2). – P. 297–311. – URL : <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2013.07.016>

103. Gunaydin L.A., Kreitzer A.C. Cortico–basal ganglia circuit function in psychiatric disease // *Annual review of physiology*. – 2016. – V. 78. – P. 327–350.

104. Hadizadeh M., Hamidi G.A., Salami M. Probiotic supplementation improves the cognitive function and the anxiety-like behaviors in the stressed rats // *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. – 2019. – V. 22. – № 5. – P. 506.

105. Hamm A.O. Fear, anxiety, and their disorders from the perspective of psychophysiology // *Psychophysiology*. – 2020. – V. 57. – № 2. – P. e13474. DOI: 10.1111/psyp.13474

106. Hart P.C., Bergner C.L., Smolinsky A.N., Dufour B.D., Egan R.J.,

LaPorte J.L., & Kalueff A.V. Experimental models of anxiety for drug discovery and brain research // *Mouse Models for Drug Discovery: Methods and Protocols*. – 2016. – № 1438. – P. 271–291.

107. Heinz S., Freyberger A., Lawrenz B., Schladt L., Schmuck G., Ellinger-Ziegelbauer H. Mechanistic investigations of the mitochondrial complex I inhibitor rotenone in the context of pharmacological and safety evaluation // *Scientific reports*. – 2017. – № 7(1). – P. 45465. – URL : <https://doi.org/10.1038/srep45465>

108. Jagmag S.A., Tripathi N., Shukla S.D., Maiti S., Khurana S. Evaluation of models of Parkinson's disease // *Frontiers in neuroscience*. – 2016. – № 9. – P. 503. – URL : <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00503>

109. Jansone B., Dzirkale Z., Jekabsons K., Pilipenko V., Beitnere U., Māgure I., Skumbiņš R., Klētnieks U, Vanaga I, Muceniece R, Kluša V. Spruce Needle Polyphenols Protect Against Atorvastatin-Induced Muscle Weakness and do not Influence Central Nervous System Functions in Rats // *Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. Natural, Exact, and Applied Sciences*. – De Gruyter Open, 2016. – V. 70. – № 1. – P. 13–20. DOI: 10.1515/prolas-2016-0003

110. Jenner P., Olanow C.W. Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease // *Neurology*. – 1996. – V. 47. – № 6. – Suppl 3. – P. 161S–170S.

111. Kambe Y., Miyata A. Potential involvement of mitochondrial dysfunction in major depressive disorder: recent evidence // *Arch Depress Anxiety*. – 2015. – V. 5460. – P. 19–28.

112. Kavuri S., Sivanesan S., Rajagopalan V. Oxidative stress and antioxidant status in rotenone induced rat models of Parkinson's disease // *International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences*. – 2020. – V. 11. – № 1. – P. 1–6. DOI: 10.26452/ijrps.v11i1.1776

113. Khedr E.M. Effects of transcranial direct current stimulation on pain, mood and serum endorphin level in the treatment of fibromyalgia: A double

blinded, randomized clinical trial / E.M. Khedr, E.A.H. Omran, N.M. Ismail [et al.] // *Brain Stimulation: Basic, Translational, and Clinical Research in Neuromodulation*. – 2017. – Vol. 10. – № 5. – P. 893–901.

114. Kvetnansky R. Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular genetic approaches / R. Kvetnansky, E.L. Sabban, M. Palkovits // *Physiological Reviews*. – 2009. – Vol. 89. – № 2. – P. 535–606. DOI: 10.1152/physrev.00042.2006

115. Leal P.C., Bispo J.M.M., Lins L.C.R.F., Souza M.F., Gois A.M., Moore C., Marchioro M., Ribeiro A.M., Silva R.H., Meshulb C.K., Santos J.R., Cognitive and anxiety-like impairments accompanied by serotonergic ultrastructural and immunohistochemical alterations in early stages of parkinsonism // *Brain research bulletin*. – 2019. – V. 146. – P. 213–223.

116. Lebedev V.P. Transcranial electrostimulation: A new approach (experimental and clinical testing and equipment) // *Biomedical Engineering*. – 1997. – № 31(2). – P. 66–73. – URL : <https://doi.org/10.1007/bf02365935>

117. Lefaucheur J.P., Antal A., Ayache S.S., Benninger D.H., Brunelin J., Cogiamanian F., Cotelli M., De Ridder D., Ferrucci R., Langguth B., Marangolo P., Mylius V., Nitsche M.A., Padberg F., Palm U., Poulet E., Priori A., Rossi S., Marangolo P. Evidence-based guidelines on the therapeutic use of transcranial direct current stimulation (tDCS) // *Clinical Neurophysiology*. – 2017. – V. 128. – № 1. – P. 56–92.

118. Luo M., Xu Y., Cai R., Tang Y., Ge M.M., Liu Z.H., Xu L., Hu F., Ruan D.Y., Wang H.L. Epigenetic histone modification regulates developmental lead exposure induced hyperactivity in rats // *Toxicology Letters*. – 2014. – № 225(1). – P. 78–85. doi: 10.1016/j.toxlet.2013.11.025

119. Matsuda W., Ehara A., Nakadate K., Yoshimoto K., Ueda S. Effects of environmental enrichment on the activity of the amygdala in micrencephalic rats exposed to a novel open field // *Congenital anomalies*. – 2018. – V. 58. – № 1. – P. 16–23. DOI: 10.1111/cga.12228

120. Michel P.P., Hirsch E.C., Hunot S. Understanding dopaminergic cell death pathways in Parkinson disease // *Neuron*. – 2016. – V. 90. – № 4. – P. 675–691.

121. Moon H.E., Paek S.H. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease // *Experimental neurobiology*. – 2015. – V. 24. – № 2. – P. 103–116.

122. Mohammad F., Aryal S., Ho J., Stewart J.C., Norman N.A., Tan T.L., Eisaka A., Claridge-Chang A. Ancient anxiety pathways influence *Drosophila* defense behaviors // *Current Biology*. – 2016. – V. 26. – № 7. – P. 981–986. DOI: 10.1016/j.cub.2016.02.031

123. Moreno-Rius J. The cerebellum in fear and anxiety-related disorders // *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. – 2018. – V. 85. – P. 23–32. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2018.04.002

124. Muñoz P. et al. Molecular and Neurochemical Mechanisms Dopamine Oxidation To O-Quinones in Parkinson's Disease Pathogenesis // *Toxicity and Autophagy in Neurodegenerative Disorders*. – Springer, Cham, 2015. – P. 205–223.

125. McCann R.F. & Ross D.A. So happy together: The storied marriage between mitochondria and the mind // *Biological psychiatry*. – 2018. – № 83(9). – P. e47–e49.

126. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Rotenone, CID = 6758. – URL : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Rotenone> (accessed on Dec. 20, 2019).

127. Nussbaumer M., Asara J.M., Teplytska L., Murphy M.P., Logan A., Turck C.W., Filiou M.D. Selective mitochondrial targeting exerts anxiolytic effects in vivo // *Neuropsychopharmacology*. – 2016. – V. 41. – № 7. – P. 1751. DOI: 10.1038/npp.2015.341

128. Palm U., Hasan A., Strube W., Padberg F. tDCS for the treatment of depression: a comprehensive review // *European archives of psychiatry and clinical neuroscience*. – 2016. – V. 266. – № 8. – P. 681–694. DOI: 10.1007/s00406-016-0674-9

129. Parasuraman S., Raveendran R., Kesavan R. Blood sample collection in small laboratory animals // *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics*. – 2010. – V. 1. – № 2. – P. 87. doi: 10.4103/0976-500X.72350

130. Pitsikas N., Georgiadou G., Delis F., Antoniou K. Effects of Anesthetic Ketamine on Anxiety-Like Behaviour in Rats // *Neurochemical research*. – 2019. – V. 44. – № 4. – P. 829–838. DOI: 10.1007/s11064-018-02715-y

131. Pfeiffer R.F. Non-motor symptoms in Parkinson's disease // *Parkinsonism & related disorders*. – 2016. – V. 22. – P. S119–S122. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2015.09.004

132. Qi F., Nitsche M.A., Zschorlich V.R. Modulating Observation-Execution-Related Motor Cortex Activity by Cathodal Transcranial Direct Current Stimulation // *Brain sciences*. – 2019. – V. 9. – № 5. – P. 121. DOI: 10.3390/brainsci9050121

133. Radad K., Al-Shraim M., Al-Emam A., Wang F., Kranner B., Rausch W.D., Moldzio R. Rotenone: from modelling to implication in Parkinson's disease // *Folia Neuropathologica*. – 2019. – V. 57. – № 1. – P. 317–326.

134. Ren Y., Feng J. Rotenone selectively kills serotonergic neurons through a microtubule-dependent mechanism // *Journal of neurochemistry*. – 2007. – № 103(1). – P. 303–311. – URL : <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04741.x>

135. Richardson J.R., Fitsanakis V., Westerink R.H., Kanthasamy A.G. Neurotoxicity of pesticides // *Acta neuropathologica*. – 2019. – № 138. – P. 1–20.

136. Robichaud M., Koerner N., Dugas M.J. Cognitive behavioral treatment for generalized anxiety disorder: From science to practice. – Routledge, 2019.

137. Romijn G., Batelaan N., Kok R., Koning J., van Balkom A., Titov N., Riper H. Internet-delivered cognitive behavioral therapy for anxiety disorders in open community versus clinical service recruitment: Meta-analysis // *Journal of medical Internet research*. – 2019. – V. 21. – № 4. – P. e11706. DOI: 10.2196/11706

138. Şahin Z., Koç A., Koca R.Ö., Solak H., Özkürkçüler A., Çakan P. &

Kutlu S. Comparison of Effects of Three Distinct Stress Models on Anxiety and/or Depression-Related Behaviors in Female Rats // *Sakarya Tıp Dergisi*. – 2019. – V. 9. – № 1. – P. 131–140.

139. Sato H., Takahashi T., Sumitani K., Takatsu H., Urano S. Glucocorticoid generates ROS to induce oxidative injury in the hippocampus, leading to impairment of cognitive function of rats // *Journal of clinical biochemistry and nutrition*. – 2010. – V. 47. – № 3. – P. 224–232.

140. Spiers J.G, Chen H.J.C., Sernia C., Lavidis N.A. Activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal stress axis induces cellular oxidative stress // *Frontiers in neuroscience*. – 2015. – V. 8. – P. 456.

141. Scott L., Dawson V.L., Dawson T.M. Trumping neurodegeneration: targeting common pathways regulated by autosomal recessive Parkinson's disease genes // *Experimental neurology*. – 2017. – V. 298. – P. 191–201.

142. Schapira A.H.V., Chaudhuri K.R., Jenner P. Non-motor features of Parkinson disease // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2017. – V. 18. – № 7. – P. 435–450.

143. Seibenhener M.L., Wooten M.C. Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice // *Journal of visualized experiments: JoVE*. – 2015. – № 96. – P. e52434–e52434. doi: 10.3791/52434

144. Sestakova N., Puzserova A., Kluknavsky M., Bernatova I. Determination of motor activity and anxiety-related behaviour in rodents: methodological aspects and role of nitric oxide // *Interdisciplinary Toxicology*. – 2013. – № 6(3). – P. 126–135. doi: 10.2478/intox-2013-0020

145. Serchov T., van Calker D. and Biber K. Light/Dark Transition Test to Assess Anxiety-like Behavior in Mice // *Bio-protocol*. – 2016. – № 6(19). – P. e1957. DOI: 10.21769/BioProtoc.1957

146. Shenoy S.S., Lui F. *Biochemistry, Endogenous Opioids* // StatPearls [Internet]. – StatPearls Publishing, 2018.

147. Shin M-S, Kim T-W, Lee J-M, Sung Y-H, Lim B-V. Treadmill exercise alleviates depressive symptoms in rotenone-induced Parkinson disease rats.

Journal of Exercise Rehabilitation. – 2017. – V. 213. – № 2. – P.124–129.  
doi:10.12965/jer.1734966.483

148. Sherer T.B., Kim J.H., Betarbet R., Greenamyre J.T. Subcutaneous rotenone exposure causes highly selective dopaminergic degeneration and  $\alpha$ -synuclein aggregation // *Experimental neurology*. – 2003. – № 179(1). – P. 9–16. – URL : <https://doi.org/10.1006/exnr.2002.8072>

149. Smaga I., Niedzielska E., Gawlik M., Moniczewski A., Krzek J., Przegaliński E., Pera J., Filip M. Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 2. Depression, anxiety, schizophrenia and autism // *Pharmacological Reports*. – 2015. – V. 67. – № 3. – P. 569–580.

150. Steel Z., Marnane C., Iranpour C., Chey T., Jackson J.W., Patel V., Silove D. The global prevalence of common mental disorders: a systematic review and metaanalysis 1980–2013 // *International Journal of Epidemiology*. – 2014. – Vol. 43(2). – P. 476–493.

151. Steimer T. The biology of fear-and anxiety-related behaviors // *Dialogues in clinical neuroscience*. – 2002. – V. 4. – № 3. – P. 231.

152. Steimer T. Animal models of anxiety disorders in rats and mice: some conceptual issues // *Dialogues in clinical neuroscience*. – 2011. – V. 13. – № 4. – P. 495.

153. Sturman O., Germain P. L., Bohacek J. Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test // *Stress*. – 2018. – V. 21. – № 5. – P. 443–452. DOI: 10.1080/10253890.2018.1438405

154. Suhara T., Fukuda H., Inoue O., Itoh T., Suzuki K., Yamasaki T., Tateno Y. Age-related changes in human D1 dopamine receptors measured by positron emission tomography // *Psychopharmacology*. – 1991. – V. 103. – № 1. – P. 41–45.

155. Xiong N., Long X., Xiong J., Jia M., Chen C., Huang J., Wang T. Mitochondrial complex I inhibitor rotenone-induced toxicity and its potential



mechanisms in Parkinson's disease models // *Critical reviews in toxicology*. – 2012. – № 42(7). – P. 613–632. – URL : <https://doi.org/10.3109/10408444.2012.680431>

156. Sagna A., Gallo J.J., Pontone G.M. Systematic review of factors associated with depression and anxiety disorders among older adults with Parkinson's disease // *Parkinsonism & related disorders*. – 2014. – V. 20. – № 7. – P. 708–715.

157. Sauerbier A., Jenner P., Todorova A., Chaudhuri K.R. Non motor subtypes and Parkinson's disease // *Parkinsonism & related disorders*. – 2016. – V. 22. – P. S41–S46. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2015.09.027

158. Schnörr S.J., Steenbergen P.J., Richardson M.K., Champagne D.L. Measuring thigmotaxis in larval zebrafish // *Behavioural brain research*. – 2012. – V. 228. – № 2. – P. 367–374.

159. Shibata S., Iinuma M., Soumiya H., Fukumitsu H., Furukawa Y., Furukawa S. A novel 2-decenoic acid thioester ameliorates corticosterone-induced depression-and anxiety-like behaviors and normalizes reduced hippocampal signal transduction in treated mice // *Pharmacology research & perspectives*. – 2015. – V. 3. – № 2. – P. e00132.

160. Streck E.L., Gonçalves C.L., Furlanetto C.B., Scaini G., Dal-Pizzol F., Quevedo J. Mitochondria and the central nervous system: searching for a pathophysiological basis of psychiatric disorders // *Revista Brasileira de Psiquiatria*. – 2014. – № 36(2). – P. 156–167. – URL : <https://doi.org/10.1590/1516-4446-2013-1224>

161. Sweis B.M. et al. A modified beam-walking apparatus for assessment of anxiety in a rodent model of blast traumatic brain injury // *Behavioural brain research*. – 2016. – V. 296. – P. 149–156.

162. Taylor C.T, Knapp S.E., Bomyea J.A., Ramsawh H.J., Paulus M.P., Stein M.B. What good are positive emotions for treatment? Trait positive emotionality predicts response to cognitive behavioral therapy for anxiety // *Behaviour research and therapy*. – 2017. – V. 93. – P. 6–12. DOI:

10.1016/j.brat.2017.03.006

163. Tong Q., Zhang L., Yuan Y., Jiang S., Zhang R., Xu Q., Ding J., Li D. Zhou X., Zhang K. Reduced plasma serotonin and 5-hydroxyindoleacetic acid levels in Parkinson's disease are associated with nonmotor symptoms // *Parkinsonism & related disorders*. – 2015. – V. 21. – № 8. – P. 882–887. DOI: 10.1016/j.parkreldis.2015.05.016

164. Valentino R.J. Endogenous opioids: the downside of opposing stress / R.J. Valentino, E. Van Bockstaele // *Neurobiology of stress*. – 2015. – Vol. 1. – P. 23–32. DOI: 10.1016/j.ynstr.2014.09.006

165. van der Velden R.M.J., Broen M.P., Kuijf M.L., Leentjens A.F. Frequency of mood and anxiety fluctuations in Parkinson's disease patients with motor fluctuations: A systematic review // *Movement Disorders*. – 2018. – V. 33. – № 10. – P. 1521–1527.

166. Venkateshgobi V., Rajasankar S., Johnson W.M.S., Prabu K., Ramkumar M. Neuroprotective Effect of Agaricus Blazei Extract Against Rotenone-Induced Motor and Nonmotor Symptoms in Experimental Model of Parkinson's Disease // *International Journal of Nutrition, Pharmacology, Neurological Diseases*. – 2018. – V. 8. – № 2. – P. 59.

167. Vieira J.C.F., Bassani T.B., Santiago R.M., Guaita G.D.O., Zanoveli J.M., da Cunha C., Vital M.A. Anxiety-like behavior induced by 6-OHDA animal model of Parkinson's disease may be related to a dysregulation of neurotransmitter systems in brain areas related to anxiety // *Behavioural brain research*. – 2019. – V. 371. – P. 111981. DOI: 10.1016/j.bbr.2019.111981

168. Winkler C., Reis J., Hoffmann N., Gellner A.K., Münkler C., Curado M.R., Fritsch B. Anodal transcranial direct current stimulation enhances survival and integration of dopaminergic cell transplants in a rat parkinson model. *Eneuro*. – 2017. – № 4(5) : ENEURO.0063-17.2017. – URL : <https://doi.org/10.1523/eneuro.0063-17.2017>

169. Wirth C. Brandt U., Hunte C., Zickermann V. Structure and function of mitochondrial complex I // *Biochimica Et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. –

2016. – V. 1857. – № 7. – P. 902–914. DOI: 10.1016/j.bbabbio.2016.02.013

170. Woods A.J., Antal A., Bikson M., Boggio P.S., Brunoni A.R., Celnik P., Knotkova H. A technical guide to tDCS, and related non-invasive brain stimulation tools // *Clinical neurophysiology*. – 2016. – № 127(2). – P. 1031–1048. – URL : <https://doi.org/10.1016/j.clinph.2015.11.012>

171. von Wrangel C., Schwabe K., John N., Krauss J.K., Alam M. The rotenone-induced rat model of Parkinson's disease: behavioral and electrophysiological findings // *Behavioural brain research*. – 2015. – V. 279. – P. 52–61. DOI: 10.1016/j.bbr.2014.11.002

172. Yu Y., Xu D., Cheng S., Zhang L., Shi Z., Qin J., Zhang Z., Wang H. Prenatal ethanol exposure enhances the susceptibility to depressive behavior of adult offspring rats fed a high-fat diet by affecting BDNF-associated pathway // *International Journal of Molecular Medicine*. – 2020. – V. 45. – № 2. – P. 365–374. DOI: 10.3892/ijmm.2019.4436

173. Zaghi S., Acar M., Hultgren B., Boggio P.S., Fregni F. Noninvasive brain stimulation with low-intensity electrical currents: putative mechanisms of action for direct and alternating current stimulation. *The Neuroscientist*. – 2010. – № 16(3). – P. 285–307. – URL : <https://doi.org/10.1177/1073858409336227>

174. Zarrindast M.R., Khakpai F. The Modulatory Role of Dopamine in Anxiety-like Behavior // *Archives of Iranian Medicine (AIM)*. – 2015. – V. 18. – № 9. – P.591–603

175. Zhang L., Guo H.L., Zhang H.Q., Xu T.Q., He B., Wang Z.H., Yang Y.P., Tang X.D., Zhang P., Liu F.E. Melatonin prevents sleep deprivation-associated anxiety-like behavior in rats: role of oxidative stress and balance between GABAergic and glutamatergic transmission // *American journal of translational research*. – 2017. – V. 9. – № 5. – P. 2231–2242.

## **ПРИЛОЖЕНИЯ**

УТВЕРЖДАЮ  
Ректор ФГБОУ ВО КубГМУ  
Минздрава России

С.Н. Алексеенко

« 14 » сентября 2020 г.

### АКТ

#### о внедрении предложения в научно-исследовательский процесс

**Наименование предложения:** «Модифицированный протокол поведенческого тестирования грызунов в установке темно-светлая камера».

**Наименование исследовательской работы:** кандидатская диссертация «Патологические тревогоподобные состояния у крыс и возможность их коррекции немедикаментозными методами»

**Автор предложения:** аспирант кафедры общей и клинической патологической физиологии Кравченко Сергей Владимирович.

**Научный руководитель:** заведующий кафедрой общей и клинической патологической физиологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор Каде Азамат Халидович.

**Дата внедрения:** сентябрь 2016.

**Основные результаты использования и их практическая значимость:**

Настоящая модификация протокола проведения тестирования в «темно-светлой камере» используется в научно-исследовательской работе на кафедре общей и клинической патологической физиологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Основным преимуществом данной модификации является сокращение времени подготовки установки к тестированию, что существенно ускоряет проведение серии поведенческих тестов при большом количестве животных. Дополнительным преимуществом служит уменьшение вероятности искажения результатов тестирования следами пребывания в установке «темно-светлая камера» предыдущего животного.

Заведующий кафедрой  
общей и клинической патологической физиологии  
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России  
д.м.н., профессор

А.Х. Каде

Доцент кафедры  
общей и клинической патологической физиологии  
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России  
к.м.н., доцент

С.А. Занин



УТВЕРЖДАЮ  
Ректор ФГБОУ ВО КубГМУ  
Минздрава России

С.Н. Алексеенко

« 17 » февраля 2020 г.

### АКТ

#### о внедрении предложения в научно-исследовательский процесс

**Наименование предложения:** «Модифицированный протокол поведенческого тестирования грызунов в установке открытое поле».

**Наименование исследовательской работы:** кандидатская диссертация «Патологические тревогоподобные состояния у крыс и возможность их коррекции немедикаментозными методами»

**Автор предложения:** аспирант кафедры общей и клинической патологической физиологии Кравченко Сергей Владимирович.

**Научный руководитель:** заведующий кафедрой общей и клинической патологической физиологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор Каде Азамат Халидович.

**Дата внедрения:** сентябрь 2016.

**Основные результаты использования и их практическая значимость:**

Настоящая модификация протокола проведения теста «открытое поле» используется в научно-исследовательской работе на кафедре общей и клинической патологической физиологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России. Основным преимуществом методики является сокращение времени подготовки установки к тестированию, что существенно ускоряет проведение серии поведенческих тестов при большом количестве животных. Дополнительным преимуществом служит уменьшение вероятности искажения результатов тестирования следами пребывания в установке предыдущего животного.

Заведующий кафедрой  
общей и клинической патологической физиологии  
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России  
д.м.н., профессор

А.Х. Каде

Доцент кафедры  
общей и клинической патологической физиологии  
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России  
к.м.н., доцент

С.А. Занин





УТВЕРЖДАЮ  
Ректор ФГБОУ ВО КубГМУ  
Минздрава России

С.Н. Алексеевко

« 14 » февраля 2020 г.

### АКТ

#### об использовании предложения в учебном процессе

**Наименование предложения:** «Патогенез патологических тревогоподобных состояний при воздействии нейротоксинов. Поведенческие проявления патологической тревожности».

**Наименование исследовательской работы:** кандидатская диссертация «Патологические тревогоподобные состояния у крыс и возможность их коррекции немедикаментозными методами»

**Автор предложения:** аспирант кафедры общей и клинической патологической физиологии Кравченко Сергей Владимирович.

**Научный руководитель:** заведующий кафедрой общей и клинической патологической физиологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор Каде Азамат Халидович.

**Дата внедрения:** с февраля 2020.

**Основные результаты использования и их практическая значимость:**

Использование материалов работы для проведения практических занятий и лекций на кафедре общей и клинической патологической физиологии со студентами и ординаторами в рамках дисциплин «Патология», «Патофизиология. Клиническая патофизиология», «Патофизиология. Патофизиология головы и шеи».

Заведующий кафедрой  
общей и клинической патологической физиологии  
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России  
д.м.н., профессор

А.Х. Каде

Автор предложения

С.В. Кравченко



УТВЕРЖДАЮ  
Ректор ФГБОУ ВО КубГМУ  
Минздрава России

С.Н. Алексеенко

«17» февраля 2020 г.

### АКТ

#### об использовании предложения в учебном процессе

**Наименование предложения:** «Механизмы развития тревожных расстройств на фоне нейродегенеративных заболеваний. Тревога как одно из немоторных проявлений паркинсонизма».

**Наименование исследовательской работы:** кандидатская диссертация «Патологические тревогоподобные состояния у крыс и возможность их коррекции немедикаментозными методами»

**Автор предложения:** аспирант кафедры общей и клинической патологической физиологии Кравченко Сергей Владимирович.

**Научный руководитель:** заведующий кафедрой общей и клинической патологической физиологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор Каде Азамат Халидович.

**Дата внедрения:** с февраля 2020.

**Основные результаты использования и их практическая значимость:**

Использование материалов работы для проведения практических занятий и лекций на кафедре нервных болезней и нейрохирургии с курсом нервных болезней и нейрохирургии ФПК и ППС со студентами и ординаторами в рамках дисциплины «Неврология. Нейрохирургия».

Заведующий кафедрой  
нervных болезней и нейрохирургии  
с курсом нервных болезней  
и нейрохирургии ФПК и ППС  
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России  
д.м.н., профессор,  
заслуженный деятель науки Кубани

Г.Г. Музлаев

Автор предложения

С.В. Кравченко





УТВЕРЖДАЮ  
Ректор ФГБОУ ВО КубГМУ  
Минздрава России

С.Н. Алексеенко

«14» февраля 2020 г.

АКТ

**об использовании предложения в учебном процессе**

**Наименование предложения:** «Механизмы развития тревожных расстройств. Возможности транскраниальной электростимуляции для коррекции тревожности».

**Наименование исследовательской работы:** кандидатская диссертация «Патологические тревогоподобные состояния у крыс и возможность их коррекции немедикаментозными методами»

**Автор предложения:** аспирант кафедры общей и клинической патологической физиологии Кравченко Сергей Владимирович.

**Научный руководитель:** заведующий кафедрой общей и клинической патологической физиологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор Каде Азамат Халидович.

**Дата внедрения:** с февраля 2020.

**Основные результаты использования и их практическая значимость:**

Использование материалов работы для проведения практических занятий и лекций на кафедре психиатрии со студентами и ординаторами в рамках дисциплины «Психиатрия, медицинская психология».

Заведующая кафедрой  
психиатрии  
ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России  
д.м.н.

Е.О. Бойко

Автор предложения

С.В. Кравченко



**Государственное бюджетное учреждение здравоохранения  
«Специализированная клиническая психиатрическая больница № 1»  
министерства здравоохранения Краснодарского края  
(ГБУЗ «СКПБ №1»)**

**АКТ  
об использовании предложения**

**Наименование предложения:** «Применение ТЭС-терапии для коррекции тревожных расстройств».

**Наименование исследовательской работы:** кандидатская диссертация «Патологические тревогоподобные состояния у крыс и возможность их коррекции немедикаментозными методами»

**Автор предложения:** аспирант кафедры общей и клинической патологической физиологии Кравченко Сергей Владимирович.

**Научный руководитель:** заведующий кафедрой общей и клинической патологической физиологии ФГБОУ ВО КубГМУ Минздрава России, доктор медицинских наук, профессор Каде Азамат Халидович.

**Дата внедрения:** с февраля 2020.

**Основные результаты использования и их практическая значимость:**  
Коррекция тревожных расстройств с помощью ТЭС-терапии.

Главный врач ГБУЗ  
«Специализированная клиническая  
психиатрическая больница №1»  
министерства здравоохранения  
Краснодарского края,  
д.м.н



*Е.О. Бойко*

Е.О. Бойко

Автор предложения

*С.В. Кравченко*

С.В. Кравченко