

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»**

МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

Каминская Ольга Владимировна

**КОРРЕКЦИЯ МЕЛАТОНИНОМ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ
АНКСИОЛИТИКОВ И АНТИДЕПРЕССАНТОВ**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Бейер Эдуард Владимирович
доктор медицинских наук, доцент

Ставрополь, 2024

О Г Л А В Л Е Н И Е

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ПСИХОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА МЕЛАТОНИНА И ЕГО СПОСОБНОСТЬ УСИЛИВАТЬ ЛЕКАРСТВЕННЫЙ ЭФФЕКТ (обзор литературы)	14
1.1. Происхождение и биологические свойства мелатонина	14
1.2. Психотропные свойства мелатонина	19
1.3. Усиление лекарственного эффекта	27
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДЫ И ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ	32
ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ДЕЙСТВИЕ АНКСИОЛИТИКОВ	43
3.1. Влияние мелатонина на выраженность специфического действия анксиолитиков у нормальных крыс	43
3.1.2. Мелатонин и хронотропные свойства анксиолитиков	54
3.2. Влияние мелатонина на выраженность антистрессорных свойств анксиолитиков	61
3.2.1. Противотревожное действие у стрессированных крыс	61
3.2.2. Хронотропные эффекты	64
3.3. Влияние удаления эпифиза на проявление анксиолитического действия	69
3.3.1. Противотревожное действие	69
3.3.2. Хронотропные эффекты	69
ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА И АНТИДЕПРЕССИВНЫЙ ЭФФЕКТ	73
4.1. Влияние мелатонина на выраженность антидепрессивного эффекта у нормальных крыс	79
4.1.1. Специфическое действие на модели «резерпиновой депрессии»	79
4.1.2. Хронотропные эффекты	84
4.2. Влияние эпифизэктомии на проявление антидепрессивного эффекта	88
4.2.1. Модель «резерпиновой депрессии»	88
4.2.2. Хронотропное действие	92

ГЛАВА 5. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ СВИДЕТЕЛЬ- СТВА АНТИСТРЕССОРНОГО ДЕЙСТВИЯ	96
5.1. Морфологические маркеры стресс-реакции	96
5.2. Состояние антиоксидантной системы мозга	103
ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ	106
ВЫВОДЫ	125
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	127
ЛИТЕРАТУРА	128
БЛАГОДАРНОСТИ	162

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Клинико-эпидемиологические исследования, проведенные в последние годы, выявили высокую распространенность невротических и депрессивных расстройств, а также сохраняющуюся тенденцию к их росту [90, 108, 245]. Это обусловлено изменением темпа и характера современной жизни, а также влиянием различных биологических, экологических и политических факторов. Ситуацию значительно усугубила пандемия коронавирусной инфекции (COVID-19), поскольку само заболевание и сопутствующие карантинные меры спровоцировали взрывной рост тревожных и депрессивных проявлений у населения всего мира [50, 232]. При этом прямые (оказание медицинской помощи, социальные выплаты) и косвенные (нетрудоспособность и смертность) экономические потери, связанные с этими заболеваниями, могут достигать 1,3% ВВП Российской Федерации [31].

Используемые в клинической практике анксиолитические и антидепрессивные препараты демонстрируют невысокую эффективность, часто не превышающую 50%. Во многих случаях наблюдается неполный выход из невротических и депрессивных состояний, что сопряжено с увеличенным риском рецидивов, суицидов, снижением социальной адаптации и инвалидизации. В процессе терапии отмечаются многочисленные побочные эффекты, в том числе ухудшение когнитивных функций, ограничение эмоциональной реактивности, сонливость и вегетативные расстройства [1, 57, 132, 157, 222].

Важно отметить, что формирование и невротических, и депрессивных расстройств неизбежно сопровождается развитием дизритмии, что объединяет их с хронобиологических позиций. В роли пусковых факторов нарушения ритмостаза обычно выступают эмоциональный стресс или расстройства в функции центральных пейсмекерных структур головного мозга. Возникающий десинхроноз, в свою

очередь, может поддерживать и даже усугублять психоэмоциональные нарушения [8, 12, 13].

Между тем в последние годы пристальное внимание исследователей привлекает гормон мелатонин, продуцируемый клетками мозговой железы эпифиза и обладающий универсальной хронотропной активностью [62, 181, 259, 269]. Очевидно, что, среди прочего, благодаря ей вещество обладает широким диапазоном фармакологического действия, направленного на защиту центральной нервной системы и внутренних органов от различных повреждений. В частности, у мелатонина в экспериментальных условиях показаны противотревожные и антистрессорные свойства [6, 159, 273]. Доказана также эффективность при депрессии самого гормона и созданных на его основе стимуляторов мелатониновых рецепторов, например, антидепрессанта вальдоксана (агомелатина) [108, 212, 271]. В связи с этим ритмстабилизирующие свойства гормона могут значительно повысить эффективность лечения данных форм психопатологии.

Однако монотерапия мелатонином самых различных заболеваний в настоящее время в клинической практике не востребована. Это обусловлено невозможностью его использования без учёта целого ряда обстоятельств (выбор адекватной дозы вещества, времени применения и др.). Но сочетанное применение мелатонина и традиционных средств специфической терапии заболеваний существенно расширяет его терапевтический потенциал [8].

Имеются убедительные экспериментальные и клинические доказательства способности гормона усиливать фармакологическую активность лекарственных веществ, обладающих разными фармакологическими свойствами. К их числу наряду с нейротропными средствами (наркотические препараты, психостимуляторы, ноотропы) принадлежат антигипертензивные, антиангинальные, противомикробные и противоопухолевые вещества [3, 125, 214, 279]. Одновременно, сочетание мелатонина с другими препаратами ведёт к существенному ограничению выраженности их нежелательных реакций [44, 133].

В связи с изложенными фактами, изучение особенностей комбинированного использования мелатонина с анксиолитическими и антидепрессивными препара-

тами, которое ранее не проводилось, представляется весьма актуальным, поскольку может существенно повысить эффективность указанных средств и ограничить их побочные эффекты.

Степень разработанности темы исследования

Эпифизарный гормон мелатонин обладает уникальной широтой фармакологических возможностей, в числе которых ритмстабилизирующие и иммунотропные свойства, способность нормализовать работу практически всех периферических органов, эндокринной системы и противоопухолевый эффект [8]. Среди прочего, психотропная активность мелатонина служит объектом пристального внимания многих исследователей. В частности, обнаружено, что снижение функции пинеальной железы способствует развитию аффективных расстройств, в том числе усилению тревожности [65]. Генетические линии мышей со сниженной плотностью мелатониновых рецепторов отличаются повышенной тревожностью, а также склонностью к развитию лекарственной зависимости нарушению социального взаимодействия [78, 154]. В серии многочисленных исследований обнаружена способность гормона дозозависимо ограничивать тревожные реакции в тестах крестообразного лабиринта, «открытого поля» и конфликтной ситуации [6]. Аналогичное действие мелатонина выявлено и у людей. По сравнению с плацебо, мелатонин, использованный сублингвально, снижает как предоперационную, так и послеоперационную тревожность (определяемую спустя 1,5 и 6 часов) у взрослых и детей [58, 194, 209].

Наряду с описанными свойствами, у мелатонина обнаружен и антидепрессивные свойства. К настоящему времени представлены экспериментальные и клинические данные, согласно которым снижение секреции гормона способствует развитию психической депрессии. В ряде экспериментов показано, что введение резерпина и эпифизэктомия оказывают сходное продепрессивное действие [8, 162, 279]. При этом введение мелатонина приводит к обратным сдвигам [209, 178]. Оценка ритмической структуры принудительного плавания крыс обнаруживает антидепрессивные свойства у мелатонина и эпифизарного пептидного препарата эпиталамина [1].

Представлены факты, свидетельствующие о том, что мелатонин может выступать в качестве синергиста традиционных препаратов, используемых для лечения церебральной и соматической патологии. При сочетании с разными нейротропными препаратами он с высоким постоянством усиливает их активность. В частности, это проявляется в случае комбинированного применения мелатонина со снотворными, ноотропными, психостимулирующими средствами [3, 186]. Однако взаимодействие мелатонина с анксиолитическими и антидепрессивными препаратами практически не изучено и требует надежного экспериментального обоснования.

Цель исследования: изучить влияние эпифизарного гормона мелатонина на проявление специфической и хронотропной активности анксиолитических и антидепрессивных препаратов.

Задачи исследования

1. Изучить влияние психотропных препаратов (анксиолитиков и антидепрессантов), мелатонина и их комбинации на психоэмоциональное состояние экспериментальных животных.

2. Исследовать изменения во временной организации функций (циркадианном ритме подвижности, колебательной структуре плавательного поведения и работе сердца) после введения анксиолитических и антидепрессивных средств, мелатонина и их комбинированного применения.

3. Изучить особенности действия феназепама, мелатонина и их комбинации на психоэмоциональные, дизритмические и морфологические нарушения у стрессированных животных.

4. Оценить изменения психоэмоционального состояния и ритмологических характеристик поведения у крыс после эпифизэктомии.

5. Оценить выраженность специфических и хронотропных эффектов анксиолитиков и антидепрессантов и их комбинации с мелатонином у эпифизэктомированных крыс.

6. Исследовать влияние мелатонина, психотропных препаратов и их сочетанного применения на выраженность стресс-индуцированных окислительных процессов в структурах переднего мозга крыс.

Научная новизна

Впервые проведена сравнительная оценка психотропных свойств эпифизарного мелатонина и традиционных противотревожных (феназепам 0,1 мг/кг и тофизопама 10 мг/кг) и антидепрессивных препаратов (имипрамина 10 мг/кг и флуоксетина 5 мг/кг). Обнаружено, что гормон демонстрирует собственную фармакологическую активность и заметно усиливает действие изученных веществ.

Показано, что ослабление тревожных и депрессивно-подобных реакций сопровождается перестройкой ритмической организации поведения и сердечной деятельности. Обладая выраженной хронотропной активностью, мелатонин повышает эффекты психотропных средств.

Впервые обнаружено, что феназепам и мелатонин ограничивают индуцированную хроническим иммобилизационно-болевым стрессом дизритмию, что совпадает со снижением тревожных реакций в поведении животных. При этом максимальный эффект отмечен при совместном введении препаратов. Мелатонин, в отличие от феназепама, отчетливо ослабляет симпатическую активность и нивелирует дисрегуляторные сдвиги в системе управления сердечным ритмом, обусловленные введением бензодиазепинового анксиолитика, у стрессированных крыс.

Приведены прямые морфологические доказательства усиления мелатонином антистрессорного действия феназепама. Максимальное уменьшение процессов инволюции тимуса, гиперплазии надпочечников и язвообразования в желудке, вызванных повторным стрессированием крыс, отмечено при комбинированном применении препаратов.

Антидепрессивные вещества демонстрируют хронотропную активность, способствуя синхронизации циркадианного ритма подвижности крыс и адаптивной перестройке временной динамики плавания со снижением показателя депрес-

сивности. При этом эпифизарный гормон также усиливает их ритмстабилизирующее действие.

Получены факты, свидетельствующие о том, что удаление эпифиза провоцирует нарушение нормальной ритмической организации поведения с сопутствующим повышением тревожных и депрессивно-подобных проявлений в поведении крыс. В этих условиях ограничивается специфическое действие феназепама и флуоксетина. Введение мелатонина частично нивелирует последствия эпифизэктомии, но его способность усиливать эффекты психотропных препаратов заметно ослабевает.

Впервые показано, что одним из компонентов антистрессорного действия психотропных препаратов и мелатонина служат их антиоксидантные свойства, которые возрастают при совместном введении веществ.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные сведения существенно расширяют представления о терапевтических возможностях эпифизарного мелатонина при лечении невротических и депрессивных расстройств. Обладая собственной психотропной активностью, продемонстрированной на разных экспериментальных моделях, гормон способен усиливать специфическое действие анксиолитических и антидепрессивных препаратов. Использование мелатонина позволяет снизить дозу психотропных препаратов при сохранении их эффективности и ограничении выраженности побочных эффектов.

Важным компонентом действия мелатонина служит его синхронизирующее влияние на ритмическую организацию поведения. Дизритмические расстройства, объединяющие невроз и депрессию с хронобиологических позиций, успешнее устраняются при совместном введении мелатонина и традиционных психотропных препаратов.

Одним из источников формирования десинхроноза, согласно полученным данным, может служить эмоциональный стресс, являющийся пусковым фактором в развитии и взаимной трансформации эмоциональных и дизритмических сдвигов. Комбинация мелатонина и феназепама демонстрирует высокую эффектив-

ность в их ограничении и может быть востребована в клинической практике для профилактики и коррекции стресс-индуцированных расстройств.

Существенное значение имеют полученные факты, свидетельствующие о том, что эпифизарная недостаточность способствует нарушению временной организации поведения с сопутствующим повышением тревожных и депрессивно-подобных реакций у крыс. Важно, что в этих условиях заметно снижается активность феназепама и флуоксетина, а также возможность мелатонина усиливать действие этих препаратов.

Показано, что повышение мелатонином специфических эффектов анксиолитиков и антидепрессантов, среди прочего, может быть обусловлено его антиоксидантными свойствами. Активация окислительных процессов в структурах переднего мозга крыс, вызванная повторным стрессированием, ограничивалась всеми изученными веществами, но наиболее отчетливое антиоксидантное действие обнаружено при сочетанном применении гормона и психотропных препаратов.

На основании всех представленных данных можно рекомендовать использование в клинической практике низких доз мелатонина в комплексной терапии невротических и депрессивных расстройств.

Методология и методы исследования

Для решения поставленных в работе цели и задач использовались методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств [20]. Хронотропные свойства препаратов оценивали с помощью теста «принудительное плавание» в модификации Е.В. Щетинина [38], удаление эпифиза производили в соответствии с методом, предложенным К.Б. Ованесовым [32], циркадианная динамика подвижности крыс оценивалась оригинальным способом, разработанным А.В. Поповым [34].

Патоморфологические особенности надпочечников и тимуса крыс оценивали с использованием микроскопического и морфометрического методов [22]. Состояние антиоксидантной системы мозга определяли с помощью иммуноферментного анализа. Полученные результаты подвергались комплексной статистической обработке.

Положения, выносимые на защиту

1. Эпифизарный гормон мелатонин обладает отчетливыми психотропными свойствами и усиливает специфическую активность анксиолитических и антидепрессивных препаратов при совместном введении в различных экспериментальных условиях.

2. Синхронизация разных по продолжительности ритмов поведения является важным слагаемым действия мелатонина и изученных психотропных препаратов. При этом наибольшее ритмстабилизирующее действие наблюдается в случае сочетанного применения гормона с анксиолитиками и антидепрессантами.

3. Мелатонин усиливает антистрессорное действие феназепама. При комбинированном введении веществ отмечается максимальное ослабление тревожных реакций, дезорганизации циркадианных колебаний подвижности и симпатизации сердечного ритма, вызванных повторным стрессированием крыс.

4. Удаление эпифиза вызывает дизритмические явления в поведении животных, а также оказывает анксиогенное и продепрессивное действие. В этих условиях специфические и синхронизирующие эффекты психотропных препаратов существенно ослабевают. Введение экзогенного мелатонина частично ограничивает последствия эпифизэктомии, но способность гормона усиливать действие лекарственных веществ у эпифизэктомированных крыс в значительной степени нивелируются.

5. Мелатонин уменьшает выраженность стресс-индуцированных морфологических изменений (инволюция тимуса, гиперплазия надпочечников, язвообразование в желудке), а также степень активации окислительных процессов в структурах переднего мозга крыс. Сходные эффекты феназепама и флуоксетина заметно усиливаются при сочетанном введении с гормоном.

Степень достоверности

Достоверность результатов исследований основывается на достаточном количестве изученной выборки животных и объеме полученных экспериментальных данных, применением стандартизованных и оригинальных методов исследований,

использованием современных фармакологических препаратов и методов статистической обработки результатов в соответствии с поставленными задачами работы.

Апробация результатов

Материалы исследования представлены на Международных молодежных форумах «Неделя науки» ФГБОУ ВО СтГМУ МЗ РФ (Ставрополь, 2015; 2016; 2017; 2018), VI международной конференции «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам» (Москва, 2015), XXIV Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2017), V съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (Ярославль, 2018), VIII международной конференции «Физико-химическая биология» (Ставрополь, 2020), I и II Международных конференциях «Психофизиология и психонейроэндокринология» (Ставрополь, 2018; 2022).

Внедрение результатов исследования в практику

Основные положения работы внедрены в учебный процесс кафедр фармакологии, клинической фармакологии, патологической физиологии, общей и биологической химии ФГБОУ ВО СтГМУ Минздрава России.

Публикации

По материалам диссертационного исследования опубликованы 17 печатных работ, из них 6 в журналах из перечня рецензируемых научных изданий, рекомендованных ВАК РФ и 11 тезисов в материалах российских и международных конференций.

Личный вклад автора

Автор диссертационного исследования является основным исполнителем на всех его этапах: анализа литературных данных по теме, выполнения экспериментальной части, обработки полученных результатов, а также подготовке публикаций.

Объем и структура работы

Диссертационная работа изложена на 160 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов иссле-

дования, 3 главы собственных результатов, их обсуждения, выводов и списка цитируемой литературы, включающего 283 источника. Работа иллюстрирована 9 таблицами и 36 рисунками.

ГЛАВА 1. ПСИХОТРОПНЫЕ СВОЙСТВА МЕЛАТОНИНА И ЕГО СПОСОБНОСТЬ УСИЛИВАТЬ ЛЕКАРСТВЕННЫЙ ЭФФЕКТ

(обзор литературы)

1.1. Происхождение и биологические свойства мелатонина

Вот уже несколько десятилетий сохраняется устойчивый интерес исследователей к мозговой железе эпифизу, который представляет собой непарное образование, в мозге грызунов располагающееся между большим мозгом и мозжечком. И это обусловлено открытием биологически активных соединений эпифиза с целым рядом чрезвычайно важных свойств.

Основным гормоном шишковидной железы является мелатонин. Поступающий через кровеносные сосуды в железу триптофан трансформируется в 5-окситриптофан, а в последующем в серотонин. Процесс регулируется ферментом N-ацетилтрансферазой, который контролирует образование предшественника N-ацетилсеротонина, в дальнейшем с помощью гидроксиндол-0-метилтрансферазы, превращающегося в мелатонин [8, 42, 83, 121].

Пинеалоциты, являющиеся основными секретирующими клетками эпифиза, одним или несколькими своими отростками плотно примыкают к капиллярам и контактируют с окончаниями симпатических нервов. Вместе с клетками нейроглии они формируют дольчатую паренхиму, которая снаружи окружена капсулой. Помимо 90% гормона мелатонина клетки вырабатывают различные биогенные амины (норадреналин, гистамин, дофамин, серотонин), нейропептиды [116, 171].

Важно, что гормон способен выбрасываться непосредственно в ликвор, и его содержание здесь гораздо выше, чем в плазме крови. Это факт продемонстрирован, например, в исследованиях на овцах, у которых в темное время суток уро-

вень этого гормона в плазме оказывается в десятки раз ниже, чем содержание в цереброспинальной жидкости [161].

Особенности физиологии эпифиза во-многом объясняются особенностями его нервных связей с другими структурами ЦНС. Несмотря на то, что железа располагается практически в центре головного мозга, она не имеет эфферентных связей с другими структурами. Воздействие на их активность эпифиз оказывает лишь посредством гуморальных факторов. Важно, что симпатический нерв и заложенные в его окончаниях бета-адренорецепторы являются практически единственным афферентным входом для железы [98].

Несмотря на то, что симпатическая регуляция выработки мелатонина является ключевой, в этот процесс вовлекаются и некоторые другие нейромедиаторные и нейромодуляторные системы. В частности, в железе млекопитающих, показано высокое содержание ГАМК и ферментов, участвующих в ее метаболизме. К тому же обнаружено большое количество бензодиазепиновых рецепторов, которые взаимодействуют с ГАМК [171].

Действие мелатонина в ЦНС и периферических органах реализуется посредством влияния на собственные рецепторы. Первыми были обнаружены белки, расположенные на мембранах самых разных клеток, а затем подобные образования были локализованы и в ядрах. Обычно выделяют два типа мелатониновых рецепторов (MT1 и MT2), имеющие определенные отличия по локализации и функции [67]. Предполагается наличие ещё одного типа мелатонин-связывающих мест – MT3. Обнаружены существенные различия в распределении рецепторов MT1 и MT2 в мозге млекопитающих. В то время как подтип MT1 широко представлен в структурах, отвечающих за организацию суточного периодизма (нейроны супрахиазматических ядер гипоталамуса (СХЯ) и фоторецептивный аппарат сетчатки), рецепторы подтипа MT2 были идентифицированы во многих областях мозга, регулирующих эмоциональное состояние и поведение, включая (неокортекс, миндалину, гиппокамп, базальные ганглии). Интересно, что совместная экспрессия двух подтипов наблюдалась в очень немногих структурах, и даже в пределах этих об-

ластей они редко присутствовали в одной и той же отдельной клетке [51,78, 137, 177].

Хорошо известен тот факт, что продукция мелатонина резко снижается по мере взросления, и это явление чрезвычайно важно для понимания физиологической роли пинеальной железы. У пожилых людей развивается прогрессирующая атрофия пинеалоцитов, с сопутствующим отложением фосфора и солей кальция в паренхиме. Одновременно уменьшаются плотность и аффинность специфических рецепторов в центральной нервной системе и периферических тканях. Ограничение числа рецепторных образований, в первую очередь, наблюдается в супрахиазматических ядрах гипоталамуса, что совпадает с поломкой суточного ритма связывания их клеток с меченым йодомелатонином. Вполне очевидно, что эти возрастные изменения функции железы, могут являться слагаемым снижения функциональной активности церебральных структур и внутренних органов [59, 111, 193, 251].

Ключевым моментом в деятельности эпифиза является отчетливая суточная периодичность выработки им мелатонина и других биологически активных соединений. Продукция основного гормона максимально выражена в темное время суток и падает в дневные часы [110]. Для секреции серотонина показаны, напротив, обратные отношения. В темновой период, помимо усиления секреции мелатонина, показаны и другие свидетельства мобилизации железы. Речь идет об усилении электрических разрядов на мембранах пинеалоцитов, повышении объема митохондрий, саркоплазматического ретикулума и аппарата Гольджи [147]. Важно, что у животных, ведущих дневной и ночной образ жизни суточный профиль выработки мелатонина одинаковый, хотя и существуют некоторые видовые отличия. Могут отличаться крутизна фронта нарастания уровня гормона в крови, положение и величина акрофазы ритма. Существенный вклад вносят также индивидуальные особенности у отдельных особей в паттерне образования гормона.

Секреция эпифизарного мелатонина также имеет отчетливую сезонную периодичность. Весной, когда световой день укорачивается, выработка гормона снижается, а осенью, напротив, имеет место обратная тенденция [110, 182]. По-

добные изменения обычно связывают с колебаниями репродуктивной функции животных [91], считая, что у человека эта зависимость была утрачена в процессе эволюции. Однако, нельзя отбрасывать взаимосвязь сезонных колебаний секреции гормона с развитием обострением различных психических заболеваний [217].

Отчетливый суточный и сезонный периодизм в функциональной активности эпифиза и выработке мелатонина предполагает непосредственное участие этой мозговой структуры в регуляции различных по продолжительности биологических ритмов. В основном это положение подтверждают имеющиеся сведения, полученные в результате экстирпации железы или, напротив, введения экзогенного мелатонина [219].

Однако вопрос о вкладе эпифиза в формирование циркадианной ритмики до сих пор остается открытым. Ранние исследования на рептилиях и птицах свидетельствовали о наличии у него собственных осцилляторных свойств. В самом деле, удаление железы, например, у птиц приводило к дезорганизации суточных колебаний основных физиологических функций. Но более поздние исследования, проведенные на млекопитающих, показали отсутствие прямой зависимости эпифизарной функции и регуляции суточной ритмики. Так, у мелких лабораторных животных обычно сохраняется циркадианная ритмика подвижности и пищевого поведения даже после удаления железы [172].

Между тем, согласно имеющимся литературным данным, нельзя полностью исключать вовлеченность эпифиза в организацию суточного периодизма [245]. Хотя после экстирпации железы не наблюдается полное устранение ритма локомоции, но, тем не менее, происходит ограничение его амплитуды [14]. Изменение длины фотопериода или инверсия светового режима в эксперименте вызывает у эпифизэктомированных животных неадекватно быстрое смещение акрофазы подвижности с ночных на дневные часы.

Подобные дизритмические явления, известные как широтный десинхроноз, развиваются при трансмеридианальных перемещениях с быстрым пересечением нескольких часовых поясов. В этих условиях эпифизарная недостаточность явно мешает адаптивному процессу перестройки биологических ритмов и их под-

стройке к новым световым датчикам [77]. Мелатонин, рекомендованный для устранения последствий подобного десинхроноза, как правило, успешнее действует у лиц, отличающихся низкоамплитудным ритмом и плавающей по времени низкоамплитудной акрофазой [8, 111].

Очевидно, что синхронизирующие свойства мелатонина востребованы при регуляции многих физиологических функций. Помимо психических процессов, это деятельность внутренних органов, эндокринной и иммунной систем. Имеются сведения о том, гормон участвует в процессах формирования контрастного суточного ритма основных иммунологических показателей [5], а также деятельности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Все эти изменения в итоге направлены на адаптацию организма человека и животных к меняющимся условиям окружающей среды.

Модулирующее действие мелатонина реализуется, вероятно, несколькими путями. В первую очередь он способен менять функциональную активность ведущего пейсмекерной структуры млекопитающих – СХЯ. Оба мозговые образования тесно взаимодействуют друг с другом, образуя единый хронобиологический блок. Об этом свидетельствуют в первую очередь особенности иннервации железы. Ранее уже отмечалось, что основным источником афферентной импульсов для шишковидной железы является симпатическая нервная система. Один из ее нервов входит в состав сложного многокомпонентного пути, который связывает фоторецепторный аппарат сетчатки и эпифиз. При этом основная часть зрительной информации поступает через супрахиазматические ядра гипоталамуса. Электролитическое разрушение ядер или хирургическое удаление верхнего шейного симпатического ганглия ведут к деафферентации железы с сопутствующим нарушением нормальной ритмической динамики его секреторных процессов [12]. Кроме того, эпифиз активно взаимодействует с так называемыми вторичными осцилляторными структурами мозга, к которым относятся, например, амигдала и гиппокамп. Они принимают важное участие во временной организации эмоциональных реакций и познавательных процессов. И, наконец, мелатонин обладает способностью регулировать активность периферических эндокринных желез. В

итоге, эпифиз с помощью своего основного гормона обеспечивает наиболее оптимальную работу организма в зависимости от фактора времени.

1.2. Психотропные свойства мелатонина

Нормализация ночного сна – первое и наиболее подробно изученное действие мелатонина [28, 99, 282]. Однако позже у гормона были обнаружены и другие терапевтические эффекты, нашедшие применение в клинике. Среди них наиболее востребованы психотропные свойства мелатонина, в частности, способность ослаблять выраженность тревожных и депрессивных расстройств. При этом развитие эмоциональных нарушений, как правило, сопровождается дефицитом функции эпифиза. Так, объем пинеальной железы, определяемый с помощью магнитно-резонансной томографии, был снижен у лиц, страдающих аффективными расстройствами, в том числе с повышенной тревожностью. Этому сопутствовало нарушение нормальной суточной динамики гормона [65]. Мыши с генетически обусловленным дефицитом МТ1-рецепторов демонстрировали повышенную тревожность, а также склонность к развитию лекарственной зависимости [78]. По другим данным, снижение плотности МТ1 и МТ2-рецепторов у линии мышей СЗН/HeN сопровождалось нарушением социального взаимодействия и усилением тревожности [154]. Обнаружено, что у эпифизэктомированных крыс ослаблялась способность анксиолитиков (тофизопама и диазепамы) стабилизировать суточный ритм подвижности и одновременно повышалось дезорганизующее влияние психостимуляторов (кофеина и фенамина) на циркадианную локомоцию [11].

Позднее было подтверждено наличие у мелатонина противотревожных (анксиолитических) свойств. В разных экспериментальных условиях мелатонин демонстрирует способность снижать, ограничивать тревожно-подобные реакции у лабораторных животных. В частности, в тесте «открытого поля» гормон дозоза-

висимо ограничивал агрессивность и угнетал двигательный ответ на сильное звуковое раздражение у мышей, одновременно повышая его латентность [247].

Вещество укорачивало латентный период выхода животных в открытые рукава экспериментальной установки и увеличивало время их пребывания там. Ограничение тревожности наблюдалось после применения достаточно низких доз гормона в сравнении с использованным в аналогичной ситуации эталонным анксиолитиком бензодиазепинового ряда диазепамом. Указанные факты подтверждались и при оценке тревожности в условиях конфликтной ситуации [8]. На этой модели мелатонин увеличивал количество подходов к поилке с электрошоковым наказанием, но не нарушал локомоторную активность животных в отличие от диазепама. Подобные результаты свидетельствуют о более рациональной организации поведения [9].

Интересно, что самки рыб демонстрируют более высокий уровень тревожности, чем самцы, но и более чувствительны к анксиолитическому действию мелатонина. Подобные факты подчеркивают важную роль переменных факторов (пол, доза, время введения) при исследовании психотропного действия гормона [104].

Частичный агонист МТ₂-рецепторов UCM765 (10 мг/кг) также демонстрировал отчетливые анксиолитические свойства, пролонгируя время нахождения крыс в открытых частях крестообразного лабиринта, хотя и уступал по выраженности действия диазепаму (1 мг/кг). Однако, как отмечают исследователи [180], в отличие от бензодиазепинового анксиолитика вещество не вызывало нарушение локомоции. Поскольку указанный эффект полностью блокировался антагонистом МТ(1) и МТ(2)-рецепторов лузиндолом (10 мг/кг) или антагонистом МТ(2) 4R-PDOT (10 мг/кг), можно предположить, что МТ(2)-рецепторы могут рассматриваться в качестве новой мишени для создания новых анксиолитических препаратов.

Многопараметрическая оценка поведения выявляет способность гормона достоверно ослаблять выраженность тревожно-подобных реакций у крыс с локальными повреждениями амигдалы многопараметрическим методом [7]. Также

его введение непосредственно в миндалину (1 мг/кг) вызывало отчетливое снижение тревожности крыс в тестах «открытое поле» и «приподнятый крестообразный лабиринт» [130]. Важно, что электролитическое разрушение миндалины в экспериментальной практике обычно используют для моделирования эмоциональных расстройств, сопутствующих стрессу и невротизации.

Обнаруженные экспериментальные сведения подтверждают наблюдения, ранее сделанные на людях. В частности, на здоровых добровольцах с использованием двойного слепого метода было показано ограничение чувства тревоги, улучшение качества и углубление ночного сна, уменьшение частоты пробуждений после использования низких доз гормона [8]. Эти сведения в дальнейшем были подтверждены и дополнены при углубленном исследовании влияния мелатонина на психические процессы у человека в норме и при патологии.

По сравнению с плацебо, мелатонин, использованный сублингвально, снижал как предоперационную, так и послеоперационную тревожность (определяемую спустя 1,5 и 6 часов) у взрослых людей (15-90 лет), причем столь же эффективно, как и мидазолам, обычно назначаемый перед оперативным вмешательством [115, 58, 123, 209, 261]. Важно, что в отличие от традиционно используемого анксиолитика, гормон не вызывал ухудшения когнитивных функций. Не менее отчетливое противотревожное действие мелатонин демонстрирует и в педиатрической практике при назначении детям до и после хирургического вмешательства [194].

У лиц, перенесших инфаркт миокарда, мелатонин (3 мг/сут) ожидаемо эффективнее способствовал нормализации ночного сна, чем бензодиазепиновый анксиолитик оксазепам (10 мг/сут). При этом сопутствующая оценка тревожности по шкале Гамильтона также обнаружила преимущество гормона над оксазепамом. Эти факты позволили авторам [106] рассматривать мелатонин как новую альтернативу бензодиазепиновым анксиолитикам.

Очевидно, что противотревожные свойства мелатонина являются частью его общего антистрессорного действия. О непосредственном участии железы в формировании реакции на стресс известно сравнительно давно, о чем свидетель-

ствуют многочисленные экспериментальные и клинические доказательства. На их основе была сформулирована концепция универсальной эпифизарной антистрессорной защиты, в которой мелатонину отводится роль модулятора различных физиологических процессов [9].

Хорошо известно, что любая реакция на стресс включает в себя несколько компонентов. В физиологическом отношении она сводится к борьбе с различными аверсивными воздействиями и максимальному ограничению каких-либо отрицательных последствий для организма. Обеспечение антистрессорной защиты предполагает включение разнообразных способов самозащиты на любых уровнях, начиная от клеточного и заканчивая организменным. У животных с высоким уровнем организации психических функций и человека стресс неизбежно вызывает отрицательную эмоциональную реакцию, вызванную первичным повышением активности эмоциогенных зон головного мозга. В результате формируется определенная поведенческая программа, соответствующая характеру повреждающего воздействия. Ее задачей является предупреждение или максимальное ограничение дальнейших контактов со стрессором. В реализации этой программы участвуют мозговые структуры, обеспечивающие эмоциональный и двигательный компоненты антистрессорной защиты.

Эпифиз, вместе с другими органами и системами включается в процесс комплексного противостояния стрессу. Согласно современным представлениям, железа является одним из основных инструментов подобной защиты. Однако ее функциональная роль является в большей степени неспецифической и модулирующей. Она носит вспомогательный характер и направлена скорее на длительное противостояние стрессирующим воздействиям. Мелатонин, вероятно, способствует созданию самых общих предпосылок для создания антистрессорной защиты [8, 21].

Если антистрессорные механизмы не срабатывают, то происходит функциональное истощение, поломка в работе различных органов и систем, принимающая опасный, само разрушительный характер. В итоге это приводит к развитию различных психических и соматических расстройств в виде неврозов, депрессии

и других болезней мозга, нарушений в работе сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, эндокринной и онкологической патологии и др.

Очевидно, стрессорная дезадаптация связана и с несостоятельностью эпифиза. Именно этим объясняется возможность использования экзогенного мелатонина для поправочной коррекции обусловленных стрессом патофизиологических нарушений [4]. Существуют по крайней мере две группы доказательств активного влияния мелатонина на выраженность реакции на стресс. Первая заключается в том, что на разных стадиях ответа на стресс обнаружены изменения в функциональной активности эпифиза. Вторая обусловлена тем, что у основного эпифизарного гормона показаны выраженные антистрессорные свойства.

Так, в разных экспериментальных условиях было показано повышение функциональной активности эпифиза при разных видах стрессирующих воздействиях. В частности, в этих условиях обнаруживались морфологические показатели усиления функциональной активности клеток и последующий рост содержания гормона как в ткани железы, так и плазме крови. Возрастал также уровень предшественника мелатонина N-ацетилсеротонина, а также активность ведущего ферментов синтеза этого гормона – N-ацетилтрансферазы.

Наряду с другими факторами, к мобилизации эпифиза в условиях стресса, в первую очередь, может приводить активация симпатических влияний. Как уже упоминалось ранее, именно от них во-многом зависит функциональная активность шишковидной железы. В частности, в ряде исследований показано возрастание содержания адреналина и других катехоламинов в паренхиме эпифиза. Этому сопутствовал также рост плотности и чувствительности постсинаптических бета-адренорецепторов, расположенных на мембранах пинеалоцитов [8].

Неоднозначные результаты, полученные различными исследователями при оценке реакции железы на стресс, могут быть обусловлены игнорированием ряда переменных факторов [18]. В первую очередь речь идет о силе и длительности стрессорного воздействия.

Так, при однократном стрессировании в эпифизе крыс отмечалась активация N-ацетилтрансферазы и повышение уровня мелатонина, в то время как после

хронической дневной иммобилизации, напротив, происходило падение активности фермента, уменьшение уровня гормона и плотности β -адренорецепторов [82]. Согласно другим данным, повторное стрессирование, наряду с нарушением суточного ритма секреции мелатонина, уплощением его акрофазы и её смещением на утренние часы, вызывало угнетение локомоторной активности и потребление пищи у крыс [280].

Следовательно, опираясь на имеющиеся факты, можно говорить о важной роли шишковидной железы в формировании ответа на стресс. Физиологический смысл подобного участия, очевидно, заключается в ограничении негативных психоэмоциональных сдвигов, прежде всего тревожности. Вследствие этого, возможно, ограничиваются и другие возникающие патофизиологические сдвиги [30].

Наряду с противотревожным действием, особый интерес исследователей и клиницистов привлекают антидепрессивные возможности мелатонина. Действительно, к настоящему времени представлены многочисленные экспериментальные и клинические данные, согласно которым снижение секреции гормона неизбежно сопутствует развитию психической депрессии [8, 162, 279]. Так, у лиц, страдающих маниакально-депрессивным психозом, содержание гормона в плазме крови в большинстве случаев выше в маниакальную фазу по сравнению с депрессивной. Частота суицидальных попыток также обратно коррелирует с содержанием мелатонина в плазме и интенсивностью его секреции. По мнению ряда исследователей, определение уровня гормона в крови может служить биологическим маркером тяжести заболевания и поводом для использования хронотерапевтических методов лечения (депривация сна, изменение фотопериода и т.п.) [263].

Вместе с тем существуют отдельные факты об отсутствии при психической депрессии нарушений секреторной функции эпифиза. Более того, в некоторых случаях уровень плазменного мелатонина у таких больных оказывался даже повышенным. Подобные данные свидетельствуют о том, важное патогенетическое значение скорее имеет не абсолютная величина содержания гормона, а четкая циркадианная ритмичность его выработки. Ведь именно смещение акрофазы его

секреции, положение ее пика и величина отличают больных людей от здоровых [11].

Другим важным фактором, вероятно, служит особенности изменения эндокринного статуса при разных формах психической депрессии. Так, при преимущественно меланхолическом варианте заболевания наблюдается масштабный дефект в гормональной системе. В этом случае, в большей степени, чем при других видах патологии нарушаются синхронизированные в норме взаимоотношения надпочечников и эпифиза. Низкому уровню гормона в плазме в темное время суток сопутствует отсутствие реакции на дексаметазоновый тест и гиперкортизолемию. У таких больных обнаружена отчетливая корреляция между высоким содержанием кортизола в плазме и, напротив, ослаблением секреции мелатонина во время депрессивных кризов [274].

Важно, что известный продепрессивный агент резерпин и удаление эпифиза приводят к сходным нарушениям суточной динамики подвижности крыс. Так, при моделировании дизритмии путем инверсии светового режима (сдвиг фаз свет-темнота на 10 часов) происходила реорганизация циркадианного ритма двигательной активности в виде уменьшения его амплитуды и расщеплением на ультрадианные составляющие. Подобный методический подход, в связи с этим, даже рекомендован для моделирования депрессивно-подобных расстройств [17, 24]. В этих экспериментальных условиях у эпифизэктомированных животных, в отличие от ложноперирированных, наблюдалась резкая, скачкообразная миграция акрофазы ритма, что свидетельствовало о развитии продепрессивных дезадаптационных сдвигов. Введение резерпина приводило к сходному результату, в то время как введение антидепрессанта имипрамина, напротив, приводило к замедлению перестройки суточного ритма.

Если экстирпация шишковидной железы сопровождается депрессивно-подобными сдвигами в поведении лабораторных животных, то использование эпифизарных соединений приводит к противоположным сдвигам [178, 209].

Мелатонин и эпиталамин (пептидный препарат эпифиза) вызывают сдвиги в плавательном поведении крыс, свидетельствующие о развитии антидепрессивного

эффекта. В частности, после их введения отмечено снижение величины индекса депрессивности, чему сопутствовала адаптивная перестройка ритма суточной локомоции. При этом на выраженность действия препаратов существенно влияли разные переменные факторы, в числе которых использованные дозы, схема и время введения, а также исходный эмоциональный статус животных. Так, мелатонин выраженно уменьшал показатель депрессивности у животных преимущественно в дневное время, когда этот показатель был максимальным и гораздо слабее действовал в ночные часы. Причем наибольший эффект оказывала относительно невысокая доза вещества (0,1 мг/кг). Способность эпителина нормализовать профиль суточной подвижности крыс лишь при условии ее исходной поломки у особей, которые по своим индивидуальным особенностям изначально относились к числу «депрессивных».

Обобщая изложенные факты, можно говорить о потенциальной способности мелатонина препятствовать формированию депрессивных расстройств. Существует ещё одно косвенное доказательство тому – повышенная склонность к развитию депрессии у пожилых людей, связанная, среди прочего, с возрастной инволюцией железы.

Однако защитная функция эпифиза в отношении этого вида психопатологии, вероятно, носит умеренный, модуляторный характер и обеспечивается в тесной связи с другими эмоциогенными структурами головного мозга. Кроме того, как свидетельствуют имеющиеся факты, для проявления антидепрессивных свойств мелатонина необходимо учитывать множество переменных факторов. К ним относятся доза и время использования гормона, а также исходный профиль гормональной секреции у конкретных лиц.

1.3. Усиление лекарственного эффекта

Наряду с использованием в качестве самостоятельного лекарственного средства, мелатонин все больше привлекает внимание исследователей и клиницистов в качестве синергиста традиционных препаратов, используемых для лечения церебральной и соматической патологии.

Показано, что при сочетании с центральными нейротропными препаратами из самых разных фармакологических групп он в подавляющем большинстве случаев потенцировал их активность. В частности, это проявлялось в случае применения мелатонина на фоне наркотических средств. Так, в достаточно широком диапазоне доз (от 0,01 до 1,0 мг/кг) гормон увеличивал продолжительность гексеналового наркоза у мышей [14]. При этом действие мелатонина существенно зависело от времени суток и было наиболее выражено в ночные часы. Согласно клиническим наблюдениям, при использовании у пожилых людей в вечернее время пролонгированного препарата мелатонина в сочетании с золпидемом ослаблялись характерные для последнего утренние нарушения когнитивной деятельности, а при сочетании эпифизарного гормона и клонидина отчетливее нормализовал сон у больных, страдающих деменцией [186].

Обнаружено, что мелатонин в дозе 0,1 мг/кг способен усиливать психостимулирующий эффект экстракта корней женьшеня (50 мг/кг) и элеутерококка (100 мг/кг). Так, при совместном внутрибрюшинном введении гормона и этих препаратов наблюдалось более существенное усиление подвижности крыс и их исследовательской активности в «открытом поле», чем при изолированном применении веществ. Похожие результаты обнаружены и при регистрации поведения животных в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». При сочетанном применении препаратов наблюдалось усиление анксиолитического эффекта. Крысы не только чаще посещали открытые рукава экспериментальной установки, но и более длительное время находились в них. Статистически достоверно увеличивалось количество вертикальных стоек и свешиваний [3]. Сходным образом мелатонин

(0,1 мг/кг) усиливал поведенческую активность крыс в открытом поле и приподнятом крестообразном лабиринте при совместном введении с ноотропными средствами пирацетамом и билобилом. В комплексе с мелатонином также возрастало позитивное влияние изученных веществ на память, оцениваемую по значимому увеличению латентности условно-рефлекторного избегательного ответа в челночной камере [6]. О специфичности указанных сдвигов свидетельствуют факты о том, что удаление эпифиза заметно ослабляет антистрессорное действие тех же растительных адаптогенов и антиамнезический эффект ноотропных препаратов (пирацетама и билобила) [3, 6].

Способность мелатонина усиливать лекарственный эффект может быть использована также и при нарушениях мозгового кровообращения. При моделировании геморрагического инсульта у крыс обнаружено, что комбинация мелатонина (10 мг/кг) и дексаметазона (0,025 мг/кг) обеспечивает более надёжные протективные сдвиги, чем изолированное использование отдельных препаратов. Это проявлялось в достоверном снижении степени отека головного мозга, проницаемости гематоэнцефалического барьера, окислительного стресса, апоптоза и экспрессии цитокинов (фактора некроза опухолей-альфа и интерлейкина-1-бета) [151]. У новорожденных крысят с экспериментальной ишемической гипоксией мозга сернокислая магнезия и мелатонин порознь, но особенно при сочетанном введении, уменьшали размеры зоны некроза в коре и число TUNEL-позитивных клеток. По мнению авторов, эту комбинацию веществ можно рекомендовать для лечения и профилактики послеродовой энцефалопатии в педиатрии [68].

Способность мелатонина потенцировать действие традиционных лекарственных препаратов проявляется и при лечении соматической патологии. В частности, при хроническом совместном применении мелатонина и антиоксиданта пикногенола у спонтанно гипертензивных крыс наблюдается более устойчивое снижение артериального давления и ограничение эндотелиальной дисфункции [231]. Обладая антигипертензивной и кардиопротективной активностью, мелатонин при сочетанном введении с каптоприлом демонстрировал отчетливый антиоксидантный эффект в миокарде крыс, ослаблял экспрессию ангиотензин-

превращающего фермента и патологическое ремоделирование левого желудочка [196]. Согласно другим наблюдениям, эпифизарный гормон в комбинации с омепразолом и противомикробными препаратами (кларитромицином, амоксициллином) способствовал более успешной терапии язвенного поражения желудка и двенадцатиперстной кишки [29]. Мелатонин способен усиливать действие противомикробных и противовирусных препаратов [5]. В частности, показана его эффективность в комбинированной терапии коронавирусной инфекции [125, 214].

Лишенный собственных токсических свойств, мелатонин способен усиливать действие противобластомных препаратов. На клеточной модели промиелоцитарной лейкемии (клетки HL-60), добавление в культуру клеток гормона значительно потенцировало токсический эффект пуромицина со снижением экспрессии антиапоптотических белков (типа Bcl-2) и повышением активности каспазы-3 [138]. Усиление апоптоза атипичных клеток можно объяснить и потенцирующее действие мелатонина на противоопухолевый эффект доксорубицина в отношении человеческой гепатомы (клеток линии HepG2) и винкристина на саркоматозные элементы костной ткани [279].

Вместе с тем сочетание мелатонина с другими лекарственными средствами ведёт к существенному ограничению выраженности их побочных реакций. Наиболее убедительно это продемонстрировано при комбинированном применении гормона с теми же цитостатическими препаратами. Так, лечение цисплатин, как известно, сопровождается поражениями стенок сосудов. В опытах на изолированной аорте крыс показано, что добавление мелатонина к этому препарату заметно ограничивало зону эндотелиальной деструкции. Подобным сочетанием удаётся также существенно уменьшить размеры язв на коже животного, вызываемых доксорубицином, и усилить угнетённые препаратом антиоксидантные свойства кожи [44, 133].

Мелатонин способен ограничивать токсические эффекты тяжёлых металлов. В частности, гормон уменьшал токсическое поражение гепатоцитов, вызванное соединениями железа, меди и хрома [192]. Повторные (в течение десяти дней) внутрибрюшинные инъекции хлорида ртути крысам приводили к развитию ин-

токсикации, а также оксидантного стресса. Свидетельством тому служило повышение интенсивности процессов перекисного окисления липидов, в частности, рост уровня малонового альдегида и сопутствующее падение количеств глутатиона в тканях легких, почек и печени. Одновременное хроническое использование мелатонина (10 мг/кг) заметно ограничивало выраженность проявления ртутной интоксикации и формирование указанных нарушений [230]. Длительное введение животным ацетата свинца сопровождалось активацией окислительных реакций во многих структурах мозга (преимущественно в полосатом теле и гиппокампе), а также печени. Это подтверждалось снижением содержания глутатионредуктазы, каталазы и супероксиддисмутазы с сопутствующим уменьшением количества глутатиона в тканях и плазме крови. При этом совместное применение мелатонина (10 или 30 мг/кг) сопровождалось выраженным профилактическим действием с отчетливым ограничением описанных биохимических нарушений [92].

Изолированное введение содержащих железо соединений в продолговатый мозг крыс (область голубого пятна), также приводило к развитию оксидантного стресса с последующим повреждением и апоптозом нервных клеток. Одновременно регистрировались быстрое снижение содержания норадреналина в зубчатой извилине гиппокампа и поведенческие нарушения. Однако если одновременно с применением железа проводились внутрибрюшинные инъекции мелатонина, то выраженность биохимических, патофизиологических и поведенческих расстройств отчетливо уменьшалась [70].

Таким образом, согласно многочисленным экспериментальным и клиническим данным, эпифизарный гормон мелатонин обладает уникальными биологическими свойствами, в числе которых способность тормозить развитие невротических и депрессивных расстройств. При совместном применении с препаратами, отличающимися по своим фармакологическим свойствам, гормон способен универсально усиливать их специфическую активность и ограничивать выраженность побочных реакций. В связи с этим, очевидно, что эти свойства нетоксичного и безопасного средства должны быть шире востребованы в практике комплексного лечения многих заболеваний, в том числе в психопатологии. Однако взаимодей-

ствие мелатонина с анксиолитическими и антидепрессивными препаратами практически не изучено и требует надежного экспериментального обоснования.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДЫ И ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 620 белых нелинейных крысах самцах. Они находились в условиях вивария при температуре 20-22 С⁰, свободном доступе к пище, воде и фиксированном световом режиме (день – 8-20 ч).

Открытое поле. Экспериментальная установка (диаметр) 2 метра, включает 16 периферических и 8 центральных сегментов. Анксиогенное влияние оказывают расположенные у основания 4 мощные электрические лампы (100 Вт). Эксперимент начинали с помещения крыс в один из периферических сегментов и затем (в течение 5 минут) наблюдали за их поведением (рисунок 1). Регистрировали число пересеченных периферических и центральных сегментов. По сумме тех и других определяли общую двигательную активность. Кроме того, оценивали число вертикальных стоек.

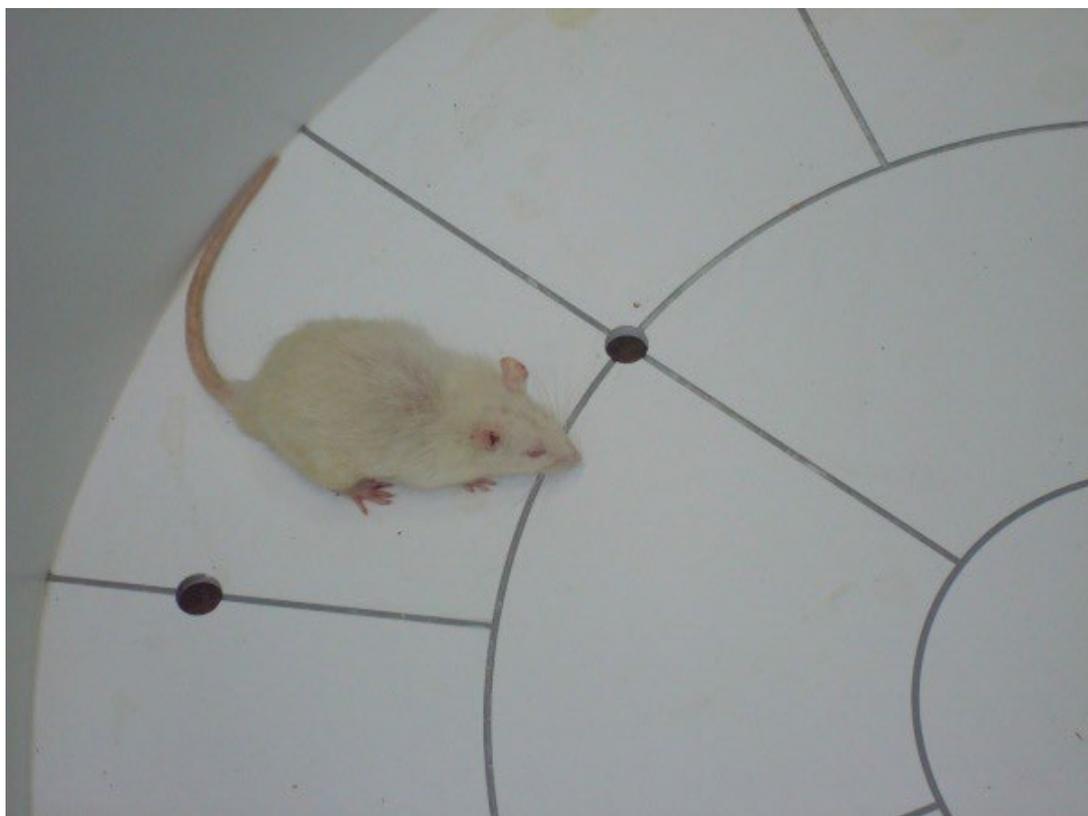


Рисунок 1 - Крыса в «открытом поле»

Крестообразный лабиринт. Включает две открытые дорожки и две с высокими бортами и затворами, располагающиеся перпендикулярно на высоте 0,5 м над полом.



Рисунок 2 - Крыса в открытом рукаве крестообразного лабиринта

В начале эксперимента помещали животное в один из открытых рукавов лабиринта, а затем оценивали время нахождения в разных областях экспериментальной установки (тревожность и двигательная активность), а также количество свешиваний и вертикальных стоек (исследовательская активность) (рисунок 2).

Многопараметрическая оценка поведения. Для характеристики тревожно-фобического состояния применяли многопараметрическую методику [35]. С этой целью каждой крысе в специальной камере предъявляли в определенной последовательности 8 тестов: определение латентных периодов: 1 - спуска с высоты, 2 - прохождения через отверстие, 3 - выхода из темного бокса, 4 - выхода из цен-

тра «открытого поля», а также реакции на руку экспериментатора: 5 - движение назад (пячение), 6 - затаивание, 7 - вокализация, 8 - прижимание ушей. В основу подбора положены две основные ситуации, в которых крысы демонстрируют ответы, связанные с проявлением страха и тревоги: I - столкновение с незнакомым неживым объектом или незнакомой ситуацией (тесты 1-4) и II - действие руки экспериментатора (тесты 5-8).

В тестах 1-3 крысу из экспериментальной обстановки возвращали в клетку не ранее, чем через 20 с после выполнения соответствующего действия или по истечении времени тестирования в случае невыполнения действия. Интервалы между указанными тестами составляли 15-20 минут. Исследование по всем остальным тестам (4-8) осуществляли в условиях «открытого поля». Ответ на каждый тест оценивали от 0 до 3 баллов: чем выше суммарный балл, тем значительнее оказывался тревожно-фобический уровень. Кроме того, при наличии у животного колебаний при выполнении 1-4 тестов («незавершенное действие») оценку за выполненное действие увеличивали на 0,5 балла. Если на разных этапах исследования у крыс наблюдались спонтанные затаивания, вокализация и прижимание ушей, то к оценке возникновения соответствующих реакций в тестах 6, 7, 8 добавляли 3 балла, так как у нормальных крыс в описанных выше экспериментальных условиях указанные реакции практически не возникают.

Конфликтная ситуация. Эксперимент по данной методике [20] начинался с тренировки крыс с целью создания у них высокой возбудимости питьевого центра. Для этого крыс лишали воды на 48 часов и содержали на сухом корме (кормовые концентраты), затем в одно и то же время суток на протяжении 3-х дней помещали в камеру, где они получали воду из поилки в течение 5 минут. В день опыта через 10 с после начала питья замыкали электрическую цепь, одним из звеньев которой являлась крыса (первый электрод подключен к поилке, второй - к металлической пластине пола перед поилкой). Крыса получала первый удар током и отпрыгивала от поилки. Этим приемом столкновения питьевого и оборонительного рефлексов и создавалась конфликтная ситуация. В дальнейшем регистрировали следующие показатели поведения крысы: 1- взятия воды, несмотря на полу-

чение при этом электрического раздражения, 2 - подходы к поилке, не завершившиеся питьем (реакция «подхода-отхода»), 3 - вертикальные стойки, 4 - общую двигательную активность по числу пересеченных линий. Эксперимент по данной методике состоял из двух этапов. Первый заключался в изучении исходного конфликтного поведения, а второй (спустя два часа) - действия лекарственных веществ.

Экстраполяционное избавление. Эта экспериментальная установка включает в себя емкость, заполненную водой и расположенный в ней полый цилиндр. После помещения животного в цилиндр определяли латентный период начала прыжков (т.е. аверсивных реакций) внутри цилиндра, а также их общее количество и латентный период подныривания, вследствие чего крыса покидала замкнутое пространство цилиндра (рисунок 3). По совокупности этих показателей оценивали когнитивные функции крыс в условиях острого стресса.



Рисунок 3 - Установка «экстраполяционное избавление»

Темно-светлая камера. Состоит из темного и светлого отсеков, которые разделены перегородкой. В ней имеется отверстие, которое связывает отсеки между собой.



Рисунок 4 - Темно-светлая камера

Эксперимент начинался с помещения крысы в темный отсек камеры. Крышка камеры и дверца в перегородке при этом были плотно закрыты. В полной темноте крыса адаптировалась к темному отсеку в течение 5 минут. Затем над светлым отсеком включали электрическую лампочку и открывали дверцу в перегородке. Далее на протяжении оценивали поведение животных. Регистрировали число и латентность (с) выглядываний из темного в светлый отсек через отверстие в перегородке, количество выходов в светлый отсек. Кроме того, фиксировали суммарную длительность пребывания крыс в разных отделах камеры.

Принудительное плавание. В экспериментальной фармакологии для скрининга антидепрессантов широко используется тест принудительного плавания животных. Принято считать, что неподвижное пребывание животных в емкости, заполненной водой свидетельствует о «поведенческом отчаянии», поскольку они не предпринимают каких-либо попыток избавиться от экстремальной ситуации.



Рисунок 5 - Оценка плавательного поведения

При этом уменьшение времени иммобилизации является критерием эффекта психотропных препаратов. Между тем в нашей лаборатории было убедительно доказано, что плавательное поведение имеет четкую колебательную структуру и предложен хронобиологический подход для ее оценки [38]. Главным критерием временной организации поведения служат регистрируемые в секундном диапазоне периоды покой-активность. При этом все временные периоды всех состояний поведения мы делим на 3 показателя, в зависимости от их продолжительности: самые короткие (менее 6 с), средние (6-18 с) и наиболее длительные (18-36 с). Кроме того, был разработан ритмологический показатель депрессивности, позволяющий более точно оценивать эмоциональное состояние мелких лабораторных животных. Он рассчитывается как соотношение числа самых коротких циклов неподвижности (менее 6 с) и общего количества периодов активного плавания. Подобный хронобиологический подход позволяет не только адекватно оценивать действие психотропных веществ с учетом их влияния на ритмическую структуру поведения [38]. Регистрацию поведения животных проводили в стандартных условиях (температура воды 28⁰С).

Циркадианный ритм двигательной активности крыс. Для его оценки использовали оригинальную экспериментальную установку, сконструированную в нашей лаборатории. Она представляет собой блок из 18 жилых клеток (40x20x20 см), посредством рычагов с кнопкой, соединенных с компьютером [34].

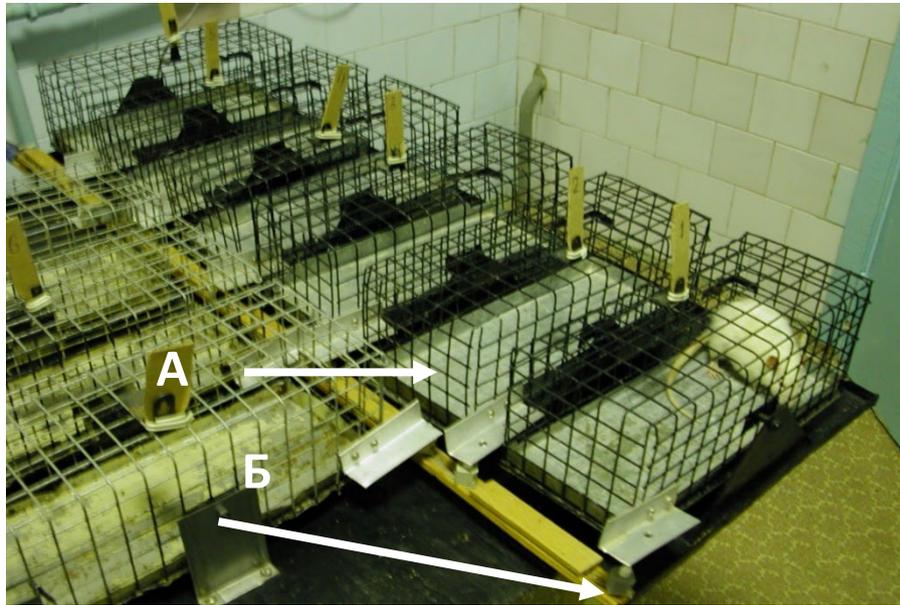


Рисунок 6 - Установка для регистрации циркадианной динамики подвижности крыс

Жилая клетка (А), кнопка (Б).

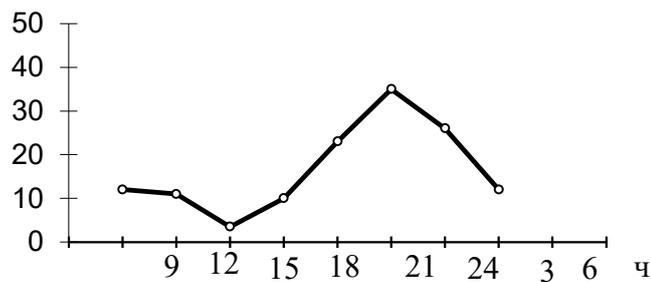


Рисунок 7 - Хронограмма суточного ритма подвижности одной из крыс.

По горизонтальной оси - трехчасовые промежутки времени,
по вертикали - общее число переходов по жилой клетке

Когда крыса совершала переход из одной части в другой бокса контакт замыкался, и это сохранялось в памяти разработанной нами оригинальной программы, при размыкании контакта, соответственно, регистрировалось следующее пе-

ремещение (рисунок 6). Непрерывно оценивали общее число подобных движений по жилой клетке за равные 3-х часовые промежутки времени с последующим построением хронограммы циркадианного ритма двигательной активности (рисунок 7).

Вариативность сердечного ритма у крыс. Вариативность сердечного ритма изучали с помощью метода кардиоинтервалографии. Крыса помещалась в иммобилизационную камеру, которая подключалась клеммами к компьютеру. ЭКГ у животных регистрировали при помощи компьютерного электрокардиографа «Поли-Спектр-8/Е».

Моделирование «резерпиновой депрессии». Для этого вводили раунатин (содержит 90% резерпина и других алкалоидов раувольфии) в дозе 4 мг/кг. Выраженность «резерпинового синдрома» оценивали спустя 4 часа после введения препарата по поведению крыс в «открытом поле», проявлению блефароптоза и величине ректальной температуры. В открытом поле стандартного размера на протяжении 5 мин. учитывали несколько параметров поведения крыс: вертикальную (по числу вертикальных стоек) и горизонтальную (количество пересеченных периферических сегментов поля) двигательную активность. Степень блефароптоза оценивали в миллиметрах (мм) и баллах в соответствии с общепринятыми критериями. Температуру измеряли в прямой кишке с помощью электротермометра.

Удаление эпифиза. В нашей лаборатории предложена собственная методика хирургического удаления эпифиза, которую применяли при проведении наших исследований [32]. Первый этап включал вскрытие черепной коробки. Затем между саггитальным и левым поперечным синусами производили разрез твердой мозговой оболочки. Далее в это место вводили бранши глазного пинцета и извлекали железу (рисунок 8). Операцию завершали микроскопированием под малым увеличением удаленного эпифиза. Целостность капсулы подтверждала надежность экстирпации. При ложной операции проводили такие же манипуляции, но железу не удаляли. Фармакологические исследования начинали спустя 10 дней после операций.



Рисунок 8 - Хирургическое удаление эпифиза

Микроскопическое исследование тимуса и надпочечников. Для изучения патоморфологических особенностей надпочечников и тимуса крыс использовали микроскопический и морфометрический методы. Для микроскопического исследования надпочечники и тимус крыс фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина и далее подвергали стандартной парафиновой обработке. Изготовленные тонкие парафиновые срезы толщиной 3-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван Гизону. Препараты изучали с помощью светового микроскопа «Olympus-CX 31» и цифровой фотокамеры «Olympus C5050 ZOOM». Микроморфометрия производилась с использованием русифицированного программного обеспечения «ImageJ2x», которое позволяет вычислить линейные размеры объекта, выделенного на фотографии микропрепаратов.

Определение антиоксидантных ферментов. Под эфирным наркозом производили декапитацию. На льду кору головного мозга и гиппокамп быстро извле-

кали. Выделенные структуры размельчали в холодной ступке с ледяным физиологическим раствором. Гомогенат центрифугировали при 3000 об/мин в течении 10 мин. Осадок отбрасывали, супернатант центрифугировали при 14 000 об/мин в течении 20 мин. Полученные аликвоты замораживали при -20 С. Активность каталазы, глутатионпероксидазы-1, супероксиддисмутазы-1 определяли с помощью наборов для определения иммуноферментным методом и анализировали с помощью микропланшетного фотометра Immunochem -2100.

Экспериментальное моделирование стресса. Стрессорную ситуацию моделировали помещением животных в емкость с водой на 18 минут. Для моделирования острого стресса эту процедуру осуществляли однократно, хроническое стрессирование осуществляли в течение 5 суток. В ряде экспериментов создавали иммобилизационно-болевого стресс. С этой целью крыс в изолированном электрифицированном боксе подвергали ударам током (0,3mA, по 2 с и интервалами 30 с в течение 5 мин).

Фармакологические исследования

На описанных экспериментальных моделях оценивали фармакологическое действие средств, обладающих анксиолитическим и антидепрессивным свойствами. Использовали: эпифизарный гормон мелатонин 0,1 мг/кг (Unipharm), анксиолитики феназепам 0,1 мг/кг (Валента Фарм) и тофизопам 10 мг/кг (БИОКОМ, ЗАО), антидепрессанты флуоксетин 5 мг/кг (АЛСИ Фарма), имипрамин 10 мг/кг («Мелипрамин», фармацевтический завод ЭГИС). Острые эффекты веществ оценивали спустя 40 минут после введения препаратов. Хронически вещества применяли в течение 7 дней.

В качестве контроля в каждой серии экспериментов отдельной группе животных вводили физиологический раствор. Все исследуемые препараты инъецировали внутривенно в объеме 0,5-0,8 мл. Эксперименты проводили в одно и то же время суток (16-19 ч).

При исследовании способности мелатонина корректировать специфические и хронотропные эффекты анксиолитиков оценивали результаты в шести группах животных: первая получала феназепам (0,1 мг), вторая тофизопам (10 мг/кг), тре-

тья – мелатонин (0,1 мг/кг), четвертая и пятая – комбинации феназепам и тофизопама с мелатонином соответственно (в тех же дозах), шестая служила контролем. Сходным образом при изучении влияния гормона на антидепрессивный эффект регистрировали результаты в пяти группах крыс: 1 – флуоксетин (5 мг/кг), 2 – имипрамин (10 мг/кг), 3 – мелатонин (0,1 мг/кг), 4 – флуоксетин + мелатонин, 5 – имипрамин + мелатонин, 6 – физиологический раствор.

Обработка результатов. Результаты, полученные в экспериментальных группах, сравнивали с данными контрольных групп и исходными показателями. Результаты эпифизэктомированных крыс сопоставляли с данными ложнооперированных особей. Анализ и сопоставление вариационных рядов осуществляли с помощью критерия Стьюдента (стандартные пакеты статистического анализа MS Office и Statistica V.8.0). Учитывая, что по данным критерия Шапиро-Уилка в ряде исследований распределения не соответствовали нормальному, применяли методы непараметрической статистики (критерий Манна-Уитни с поправкой Бонферрони).

ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА ДЕЙСТВИЕ АНКСИОЛИТИКОВ

Проводили сравнительную оценку эффектов традиционных анксиолитических средств (феназепам, тофизопам) и мелатонина при изолированном введении крысам и в комбинации с гормоном. На разных моделях изучали выраженность противотревожного действия препаратов и их хронотропной активности. Все исследования выполняли на нормальных и стрессированных животных, а также крысах, подвергнутых операции эпифизэктомии.

3.1. Влияние мелатонина на выраженность специфического действия анксиолитиков у нормальных крыс

Открытое поле. Крысы, которым в качестве контроля вводили физиологический раствор обычно демонстрировали относительно низкую активность. Часто в самом начале тестирования (30-40 с) они обычно переходили в пределах 6-12 периферических сегментов и крайне редко заходили в центр. Число вертикальных стоек также было невысоким (от двух до пяти) и зависело от индивидуальных особенностей. Значительную часть времени они оставались в неподвижном состоянии в одном из сегментов.

Феназепам заметно усиливал подвижность животных. Они активно перемещались по периметру поля, в результате чего число пересеченных сегментов достоверно возрастало (до $11,5 \pm 1,2$; $P < 0,05$). Возрастало количество стоек (с $3,2 \pm 0,2$ до $5,4 \pm 0,4$; $P < 0,05$), а также исследованных отверстий (с $2,9 \pm 0,2$ до $4,9,0 \pm 0,6$; $P < 0,05$), что свидетельствовало об усилении исследовательской активности (рис.9). Тофизопам сходным образом способствовал повышению подвижности животных, что проявилось в виде роста количества пересеченных ими пе-

риферических сегментов ($14,8 \pm 1,1$; $P < 0,01$). Вертикальные стойки они принимали чаще, что отражало усиление исследовательских действий, однако, эти изменения поведения не выходили за рамки недостоверной тенденции (рисунок 9).

Мелатонин действовал иначе и меньшей степени влиял на подвижность крыс, чем бензодиазепиновые анксиолитики. Число пересеченных периферических сегментов заметно росло ($11,0 \pm 0,5$; $P < 0,05$), но, важно, что после его применения животные гораздо чаще заходили в центральные участки поля ($5,0 \pm 1,0$; в контроле $1,0 \pm 0,2$; $P < 0,01$). Еще одной отличительной особенностью действия мелатонина было существенное увеличение исследовательской активности крыс, о чем свидетельствовал рост количества вертикальных стоек ($9,0 \pm 0,5$; $P < 0,05$) и исследованных отверстий ($6,5 \pm 0,3$; $P < 0,01$).

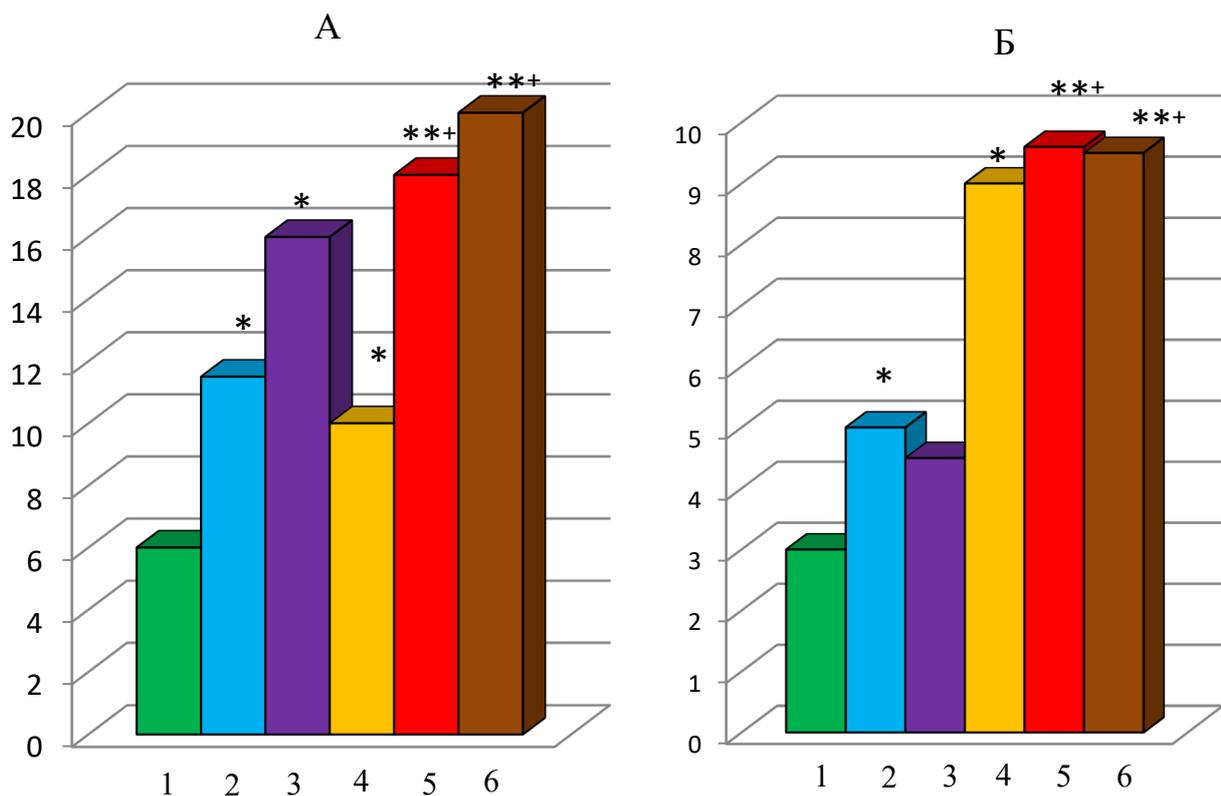


Рисунок 9 - Влияние анксиолитиков, мелатонина и их сочетания на поведение крыс в тесте «открытое поле»

Столбиками обозначены количества пересеченных сегментов поля (А) и вертикальных стоек (Б) для групп животных: 1 – введение физиологического раствора (контроль); 2 – феназепам 0,1 мг/кг; 3 – тофизопама 10 мг/кг; 4 – мелато-

нина 0,1 мг/кг; 5 – сочетание мелатонина и феназепам; 6 – мелатонина и тофизопама. *- достоверные различия (при $P < 0,05$) в сравнении с контрольной группой (** - $P < 0,01$, + -сравнение с результатами изолированного введения анксиолитических средств).

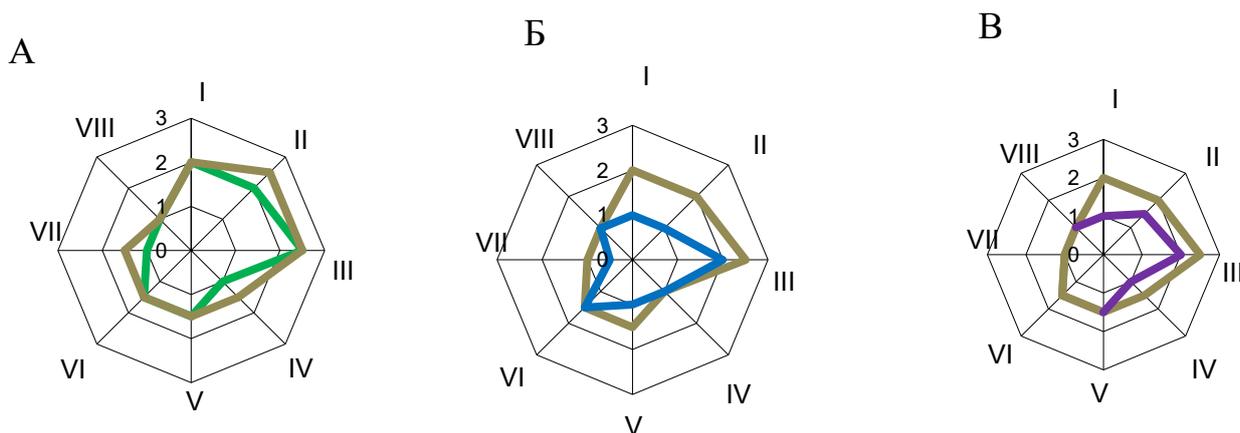
При комбинированном введении мелатонина с феназепамом и тофизопамом наблюдалось отчетливое усиление эффекта препаратов. Животные обеих групп пересекали наибольшее число сегментов поля ($17,5 \pm 1,1$ и $19,5 \pm 1,1$, соответственно, $P < 0,01$), и это сочеталось с высокой исследовательской активностью ($9,6 \pm 1,0$ и $9,5 \pm 0,8$ вертикальных стоек, $P < 0,05$) (рисунок 9).

Таким образом, в тесте «открытое поле» мелатонин демонстрирует достаточно отчетливое снижение выраженности тревожных реакций и заметно усиливает эффекты бензодиазепиновых анксиолитиков.

Многопараметрическая оценка поведения.

При оценке поведения многопараметрическим методом животные демонстрировали заметные индивидуальные отличия в проявлениях тревожных реакций. Большинство животных относительно быстро спускались с высоты, но редко выходили из затемненного бокса. Значения суммарного балла для всех показателей поведения находились в достаточно широком диапазоне от 10 до 17 баллов.

Феназепам, по сравнению с контрольной группой, укорачивал латентный период выполнения крысами двигательных тестов. Они намного быстрее, покидали высоту, проходили через отверстие и чаще покидали бокс. Ответ на приближение руки экспериментатора (затаивание, пачение, вокализация) также становился менее выраженными, (рисунок 10).



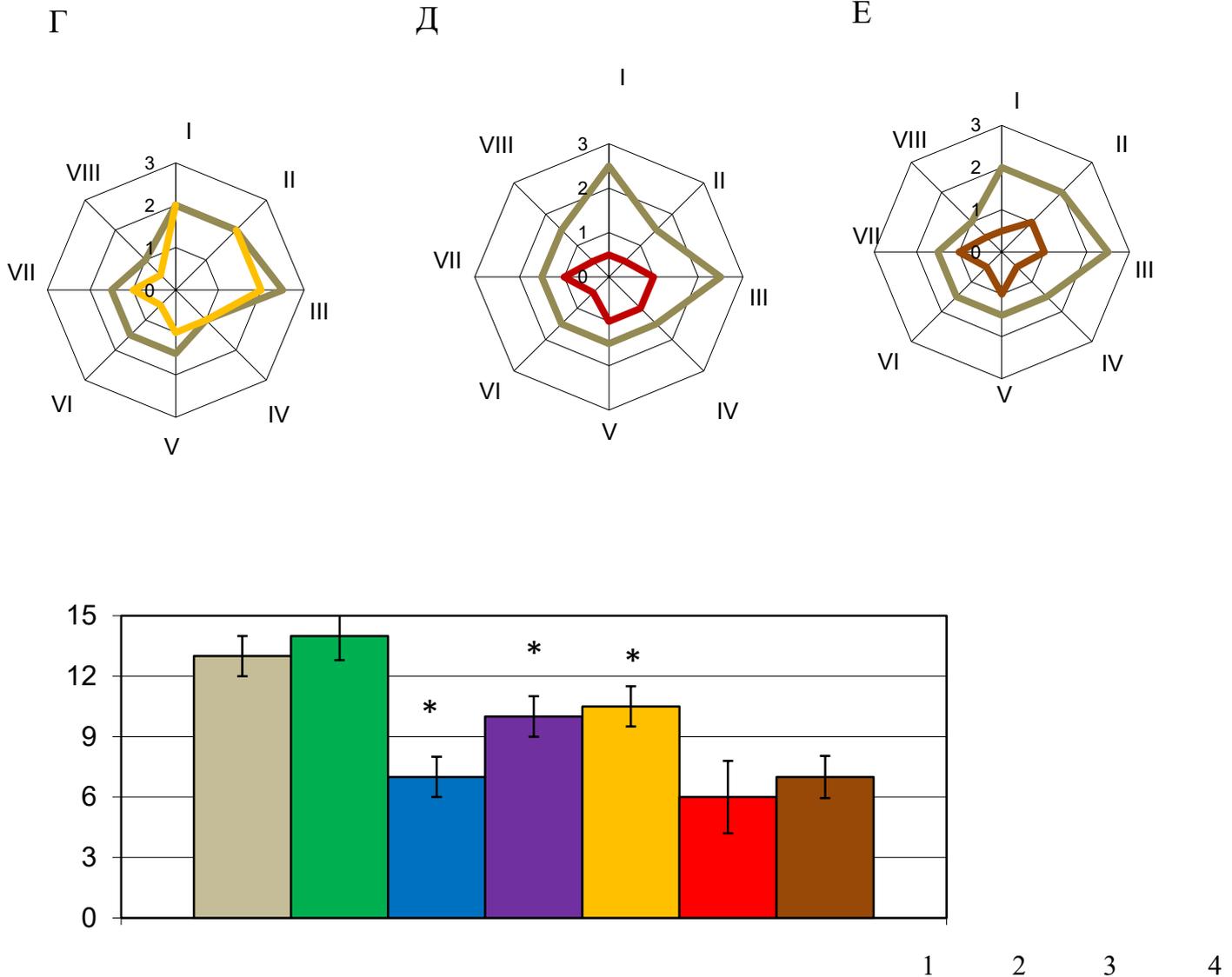


Рисунок 10 - Влияние анксиолитиков, мелатонина и их сочетания на тревожно-фобическое состояние крыс (по данным многопараметрической оценки поведения)

Векторограммы отражают профиль поведения крыс до (светло-коричневая линия) и после (цветная) введения препаратов. Столбики – значения общего балла тревожности. 1 – данные интактных крыс; А,2 – после введения физ. р-ра; Б,3 – феназепам, В,4 – тофизопама; Г,5 – мелатонина; Д,6 – мелатонина и феназепам, Е,7 – мелатонина и тофизопама. Столбики – суммарный балл оценки поведения.

Тофизопам оказывал похожее, но несколько менее выраженное действие. Вещество преимущественно ускоряло двигательные реакции крыс, в меньшей степени влияя на фобические реакции (рисунок 10). Действие мелатонина, напротив, проявлялось в некотором увеличении латентного периода спуска с высоты и прохождения через отверстие. При этом особи, получившие гормон, внешне казались спокойными, часто совершая вертикальные стойки и умывались. В итоге суммарный балл поведенческих реакций понижался, но недостоверно (рисунок 10).

Мелатонин усиливал противотревожное действие феназепама при совместном введении, судя по выраженному снижению суммарного балла оценки поведения. Животные, получившие комбинацию препаратов, с первой же попытки выполняли моторные тесты, уменьшилась суетливость, характерная для изолированного введения анксиолитика. Приближение руки экспериментатора не вызывало выраженных фобических реакций в виде пачения, затаивания и прижимания ушей. Сходные результаты получены и при сочетанном применении мелатонина и тофизопама. Гормон заметно потенцировал анксиолитический эффект бензодиазепинового препарата, и в комбинации отмечено максимальное снижение суммарного балла оценки поведения (рисунок 10).

Таким образом, согласно фактам, обнаруженным при многопараметрической оценке поведения, использованные анксиолитики и мелатонин снижают тревожность животных, причем этот эффект повышается в случае комбинированного введения препаратов.

Приподнятый крестообразный лабиринт. После введения физиологического раствора крысы, помещенные в центр установки, сразу забежали в темный рукав лабиринта и предпочитали находиться там. Они нечасто посещали открытые рукава и центр экспериментальной установки и пребывали там недолго ($25,5 \pm 3,5$ с). Редко отмечались вертикальные стойки и свешивания, что свидетельствовало о низкой исследовательской активности (рисунок 11).

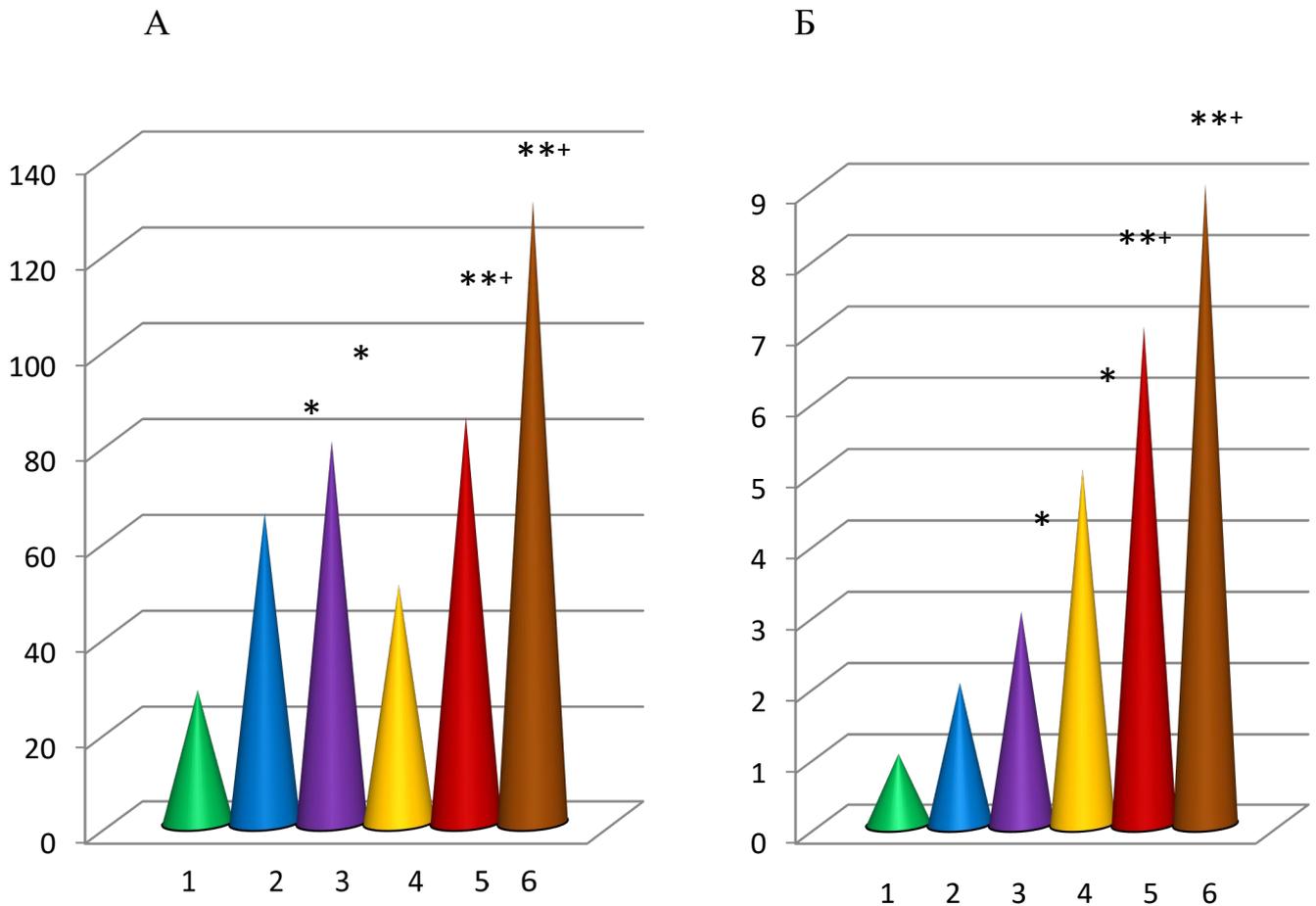


Рисунок 11 - Влияние изолированного и совместного введения феназепама, тофизопама и мелатонина на поведение крыс в крестообразном лабиринте

Конусы – время пребывания в открытых рукавах лабиринта (А) и свешиваний с открытой платформы (Б) для групп животных: 1 – физиологический р-р (контроль); 2 – феназепам; 3 – тофизопам; 4 – мелатонина; 5 – сочетание мелатонина с феназепамом и 6 – тофизопамом.

Феназепам повышал время нахождения крыс в открытых рукавах установки и ее центральном отделе. Кроме того, активировалось и исследовательское поведение животных, о чем свидетельствовал рост числа свешиваний и вертикальных стоек (рисунок 11). Тофизопам сходным образом пролонгировал время пребывания животных в открытых рукавах по сравнению с контрольной группой, но его

эффект был выражен более отчетливо. При этом, если судить по числу вертикальных стоек и свешиваний исследовательское поведение менялось не столь значительно.

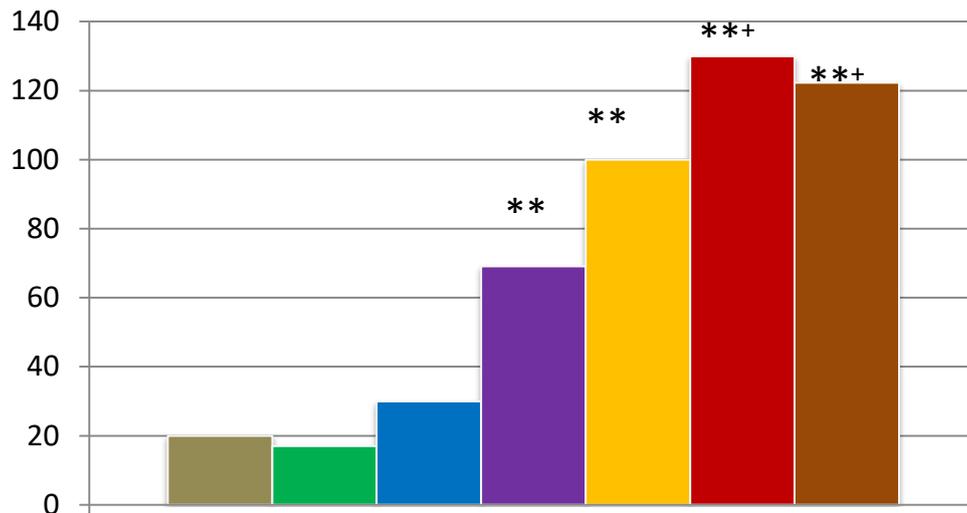
Действие мелатонина несколько отличалось. Он в меньшей степени менял время пребывания крыс в открытых рукавах установки, но значительно повышал число вертикальных стоек и свешиваний (рисунок 11). Крысы, получившие комбинацию обоих препаратов, продолжительнее находились в открытых рукавах, чем при их изолированном введении веществ. В еще большей степени синергизм гормона проявлялись при комбинации с тофизопамом. Крысы долгое время находились в открытых отсеках лабиринта, совершая переходы из светлого в темный рукав.

Таким образом, в приподнятом крестообразном лабиринте все использованные препараты повышали длительность пребывания крыс в его открытых рукавах, демонстрируя противотревожную активность. Мелатонин усиливал анксиолитические свойства бензодиазепиновых производных, что наиболее отчетливо наблюдалось при его комбинированном введении с тофизопамом.

Темно-светлая камера. Интактные крысы после помещения в экспериментальную установку быстро переходили в темный отсек и все дальнейшее время тестирования проводили в нем. Они редко совершали вертикальные стойки, выглядывали из темной части бокса и большей частью не переходили в светлый отдел. Контрольные инъекции физиологического раствора не вызвали заметных изменений поведения животных.

Феназепам в использованной дозе недостоверно увеличивал время пребывания крыс в светлой части установки (рисунок 12А). При этом анксиолитик повышал количество вертикальных стоек, выглядываний и переходов из одного отсека камеры в другой. Все указанные изменения однозначно свидетельствовали об ограничении тревожных реакций в поведении крыс.

А



Б

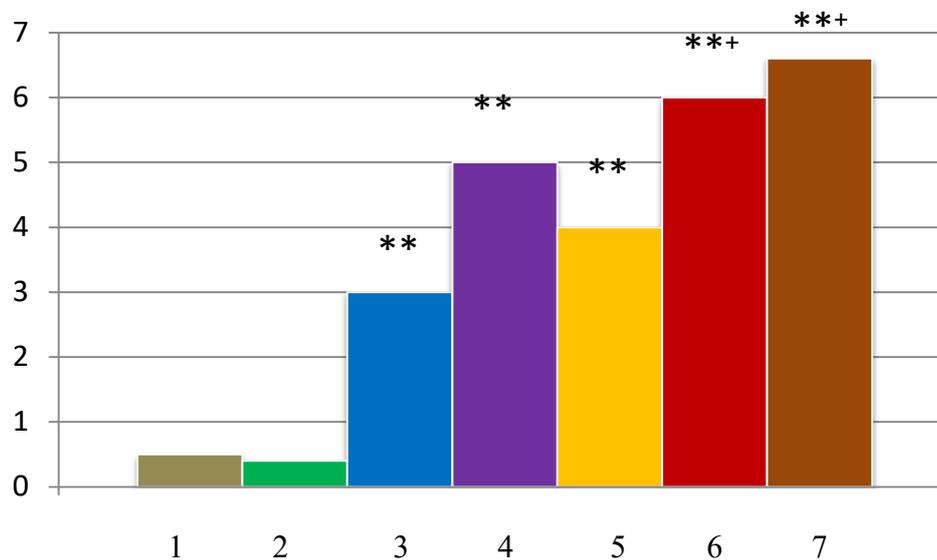


Рисунок 12 - Влияние изолированного и совместного с мелатонином введения феназепама и тофизопама на поведение крыс в тесте «темно- светлая камера».

Столбиками обозначены продолжительность нахождения крыс в светлой части камеры (А) и количество переходов между её отделами (Б) для групп животных: 1 – интактных, 2 – получавших физиологический р-р; 3 – феназепам; 4 – тофизопам; 5 – мелатонин; 6 – сочетание мелатонина и феназепама; 7 – мелатонина и тофизопама.

Тофизопам пролонгировал время пребывания животных в светлой части камеры и количество переходов между отсеками в сравнении с контрольной группой (рисунок 12Б). Мелатонин, судя по полученным данным, также оказывал противотревожное действие в проведенном тесте. Свидетельством тому служило значимое увеличение времени нахождения животных в светлом отсеке экспериментальной камеры. При совместном введении с мелатонином действие использованных анксиолитических средств отчетливо усиливалось. Крысы значительную часть времени регистрации оставались в светлом отсеке экспериментальной установки. Этот показатель значительно превышал значения, определенные при отдельном применении препаратов. Наряду с этим, заметно увеличивалось число переходов животных из темной части установки в светлую, но число выглядываний при этом, напротив, снижалось (рисунок 12).

Конфликтная ситуация. Интактные крысы, помещенные в центр экспериментальной установки, обычно совершали 2-3 попытки взять воду из поилки, завершившихся электроболевым наказанием. Затем они еще 4-5 раз подходили к поилке, но пить уже не пытались. Другие регистрируемые показатели (вертикальные стойки двигательная активность) существенно отличались у разных особей. После контрольных инъекций физиологического раствора отмечено ограничение подвижности, впрочем, как и всех других параметров поведения.

Феназепам повышал число взятий воды с электроболевым наказанием, а также число «холостых» подходов к поилке, которые не завершались питьем. Одновременно возрастала двигательная активность и количество вертикальных стоек (таблица 1). Тофизопам оказывал сходное действие и сопоставимое изменение числа наказуемых взятий воды. Мелатонин также увеличивал количество наказуемых взятий воды, а также значимо повышал количество вертикальных стоек. При этом гормон не оказывал заметного влияния на количество холостых подходов и общую двигательную активность. В целом, поведение животных, если сравнивать с эффектами традиционных анксиолитиков, выглядело более рациональным (таблица 1).

Таблица 1 - Влияние препаратов на показатели поведения крыс в условиях конфликтной ситуации

Показатели Группы	Наказуемые взятия воды	Подходы к поилке	Вертикальные стойки	Пересеченные линии
Интактные	2,6±0,4	3,0±0,22	3,1±0,25	21,0±3,5
Физ. р-р	2,1±0,25	2,2±0,18	2,2±0,3	14,0±2,7
Феназепам	4,9±0,8*	4,7±0,7*	5,2±0,6*	35,0±5,2**
Тофизопам	4,7±0,25*	5,7±0,55**	6,5±1,3*	35,0±5,5**
Мелатонин	4,0±0,4*	3,2±0,6	8,8±1,7**	25,0±3,3*
Феназепам+ мелатонин	9,5±1,3**+	7,5±1,4**	10,7±1,3**	33,5±3,5*
Тофизопам+ мелатонин	8,2±1,4**+	6,9±0,8**	9,7±2,5**	37,0±4,1*

Примечание. * - статистически значимые изменения при сравнении с данными контрольной группы (** - $P < 0,01$). + - достоверные отличия по отношению к изолированному введению феназепама и тофизопама.

Наибольшее противотревожное действие обнаружено в случае введения комбинации феназепама и тофизопама с мелатонином. В этом случае животные совершали наибольшее число наказуемых взятий воды. Большую часть времени крысы находились непосредственно около поилки. В результате количество вертикальных стоек и общая подвижность существенно не менялись и оказывались на уровне, обнаруженном при изолированном применении веществ.

Таким образом, феназепам, тофизопам и мелатонин оказывают отчетливое противотревожное действие в условиях конфликтной ситуации у крыс. При этом наибольший анксиолитический эффект, судя по числу наказуемых взятий воды, наблюдается при совместном введении мелатонина с бензодиазепиновыми производными.

Экстраполяционное избавление.

Поведение животных при помещении в экспериментальную установку имело заметные индивидуальные отличия. Меньшая часть крыс (20%) после короткого замирания подныривала под край цилиндра, практически не совершая прыжков. Другие животные (70%) также после короткой паузы обычно прыгали внутри цилиндра (от 3 до 15 раз), после чего подныривали и покидали его. И, наконец, третий тип поведения животных в тесте (10%) характеризовался длительным латентным периодом возникновения аверсивных реакций, в течение которого эти особи находились внутри цилиндра без движения. Согласно полученным данным, контрольные инъекции физиологического раствора заметно не влияли на показатели поведения крыс (таблица 2).

Таблица 2 - Влияние анксиолитиков и мелатонина на основные показатели поведения крыс в тесте «экстраполяционного избавления»

Показатели Группы	Начало аверсивных реакций (сек)	Число прыжков	Период подныривания (сек)
Интактные	15,2±2,2	7,0±1,2	38,5±5,4
Физ. раствор	14,0±2,5	7,5±1,5	36,0±6,3
Феназепам	8,3±1,1*	8,0±1,5	22,0±3,2
Тофизопам	10,5±0,8*	6,5±0,5	24,8±1,6*
Мелатонин	7,0±1,2*	5,2±1,4	23,2±3,2*
Феназепам+ мелатонин	5,2±1,0***+	5,0±1,1*+	16,8±2,4***+
Тофизопам+ мелатонин	5,0±1,0***+	5,6±0,6**	12,6±2,0***+

Примечание: обозначения как в таблице 1

Феназепам и мелатонин сходным образом значительно ограничивали время начала аверсивных реакций и уменьшали латентный период подныривания (таб-

лица 2). Наиболее выраженный эффект отмечался при сочетанном использовании препаратов (таблица 2).

Следовательно, в соответствии с полученными данными, в тесте экстраполяционного избавления феназепам, тофизопам и мелатонин оптимизируют поведение крыс, при этом гормон заметно усиливает действие анксиолитиков.

Таким образом, на всех моделях, используемых для оценки анксиолитического действия, мелатонин демонстрирует отчетливое противотревожное действие и усиливает специфические эффекты бензодиазепиновых анксиолитиков.

3.1.2. Мелатонин и хронотропные свойства анксиолитиков

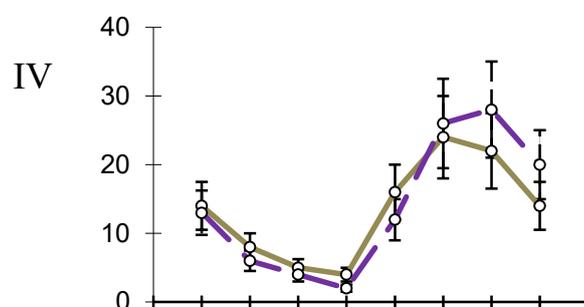
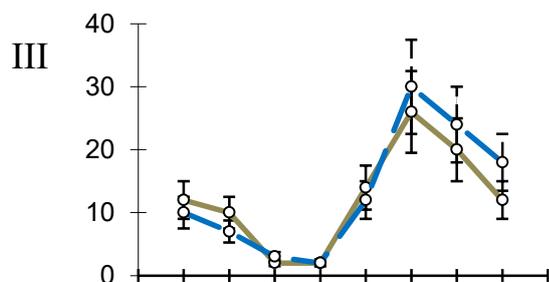
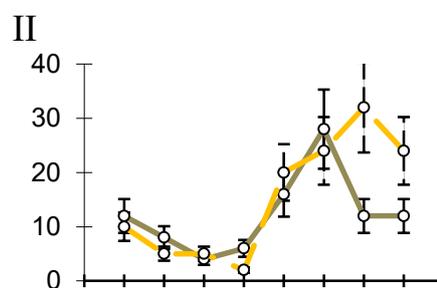
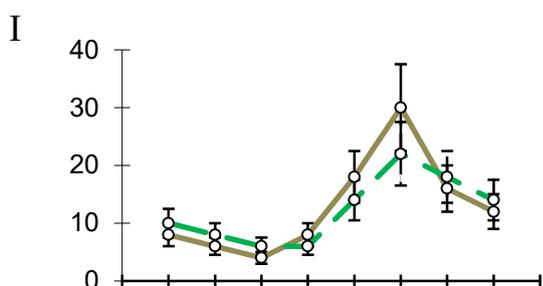
Изучали влияние анксиолитиков на различные по длительности ритмические процессы (суточную динамику подвижности, временную организацию плавательного поведения и вариативность сердечного ритма), сопоставляя их действие с эффектами известного хронотропного агента – мелатонина. Кроме того, на использованных хронобиологических моделях оценивали результаты совместного применения гормона и анксиолитических средств.

Суточная динамика двигательной активности.

Ведущие ночной образ жизни крысы большее количество переходов по жилой клетке совершали именно в это время суток. Положение акрофазы ритма заметно колебалось в зависимости от индивидуальных особенностей, но у большинства интактных особей отмечалось в 24 часа. Контрольные инъекции физиологического раствора приводили к некоторому снижению двигательной активности, что, вероятно, связано со стрессирующим характером самой процедуры (рисунки 13).

Мелатонин, обладающий отчетливыми хронотропными свойствами, вызывал усиление ночной подвижности крыс, при этом акрофаза ритма смещалась на ранние утренние часы (рисунок 13). Количество переходов в дневное время, напротив, сокращалось, что в итоге приводило к увеличению амплитуды ритма (AP) ($5,2 \pm 1,5$, в контроле $2,3 \pm 0,2$; $p < 0,01$). При индивидуальном анализе было обнаружено, что наиболее чувствительными к действию гормона оказались животные с плохо сформированным ритмом циркадианной подвижности и нестабильным положением его акрофазы.

После введения феназепама подвижность крыс быстро нарастала, оставалась такой до утра, а ее акрофаза мигрировала на более позднее время. Амплитуда ритма значимо увеличивалась ($4,3 \pm 0,3$ в контроле $2,3 \pm 0,2$; $p < 0,05$) (рисунок 13). Введение тофизопама также вызывало усиление подвижности крыс, и это активирующее влияние сохранялось на протяжении всего темного периода. Акрофаза ритма также смещалась на утро, однако, была выражена нечетко ($4,3 \pm 0,25$ в контроле $2,3 \pm 0,2$; $p < 0,05$) (рисунок 13).



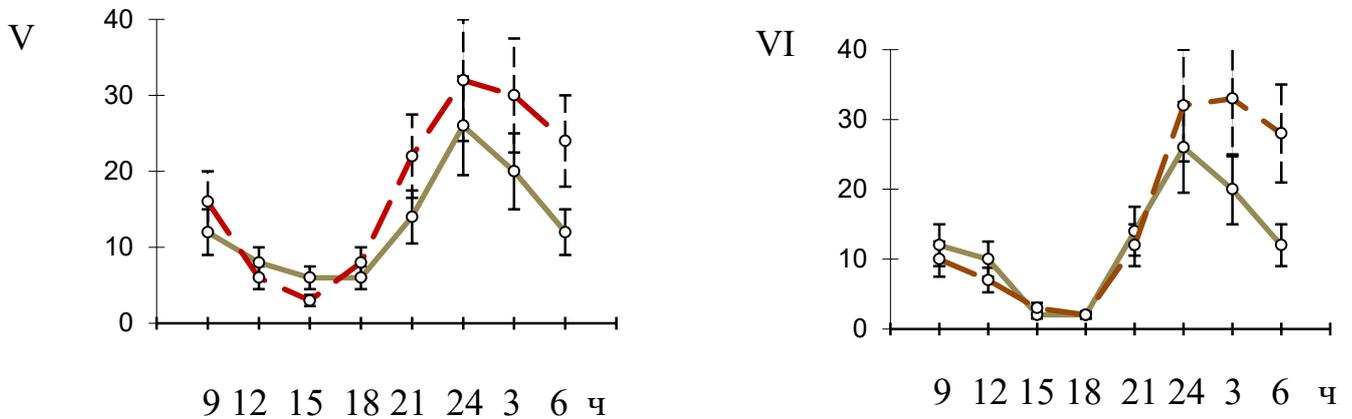


Рисунок 13 - Влияние мелатонина (II), феназепама (III), тофизопама (IV), сочетания мелатонина с феназепамом (V) и тофизопамом (VI) на циркадианную динамику подвижности крыс. I – результаты введения физ. раствора

Сплошная линия – исходные данные, пунктирные – после применения веществ. По оси ординат – число переходов в жилых клетках за каждые 3 часа, по оси абсцисс - время суток (ч).

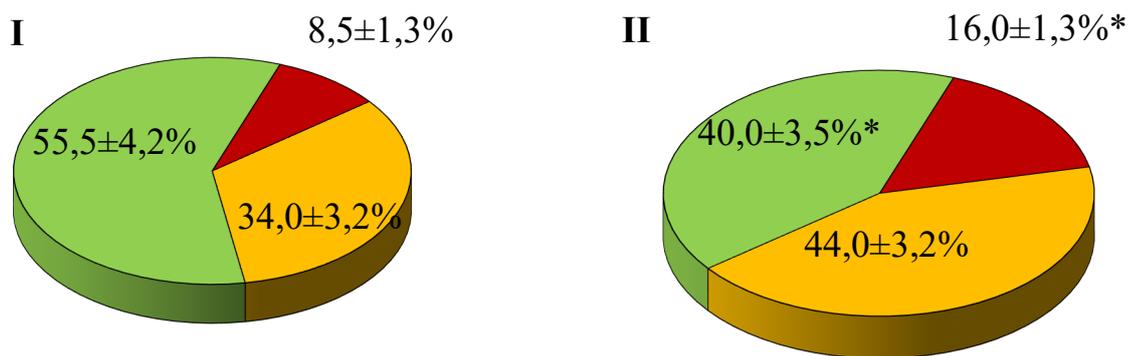
При совместном применении с мелатонином синхронизирующее действие анксиолитиков заметно усиливалось. Ночная подвижность крыс возрастала, ритм становился более контрастным, его акрофаза смещалась на ранние утренние часы, а амплитуда увеличивалась с высокой степенью достоверности ($5,8 \pm 0,4$; $5,7 \pm 0,3$ в контроле $2,3 \pm 0,2$; $p < 0,01$) (рисунок 13).

Временная динамика принудительного плавания

Плавательное поведение интактных особей зависело от их индивидуальных особенностей. У части животных доминировало активное плавание, у других – неподвижность, а у некоторых животных равномерно были представлены все три состояния, включая пассивное плавание. Обычно в ритмической структуре поведения доминировали периоды малой и средней продолжительности.

Мелатонин, если сравнивать с контролем, уменьшал число коротких периодов (менее 6 с) как активного плавания, так и иммобилизации. Продолжительные состояния неподвижности чередовались с не менее длительными периодами активности (рисунок 14). Феназепам повышал время активного плавания в первую очередь за счет циклов средней длительности. Сходное действие оказывал тофизопам. После его введения доля активного плавания увеличилась в еще большей степени. При сочетанном введении мелатонина и бензодиазепиновых анксиолитиков животные значительную часть времени тестирования проводили в состоянии активности, чередуя их с остановками средней и большей длительности. В результате в ритмической структуре поведения доминировали продолжительные эпизоды активности (рисунок 14). В целом плавание животных выглядело более рациональным: интенсивные и длительные эпизоды активности с попытками покинуть резервуар с водой сменялись периодами отдыха.

Таким образом, мелатонин и анксиолитики вызывают адаптивные сдвиги в ритмической структуре плавательного поведения крыс, которые усиливаются при совместном введении веществ.



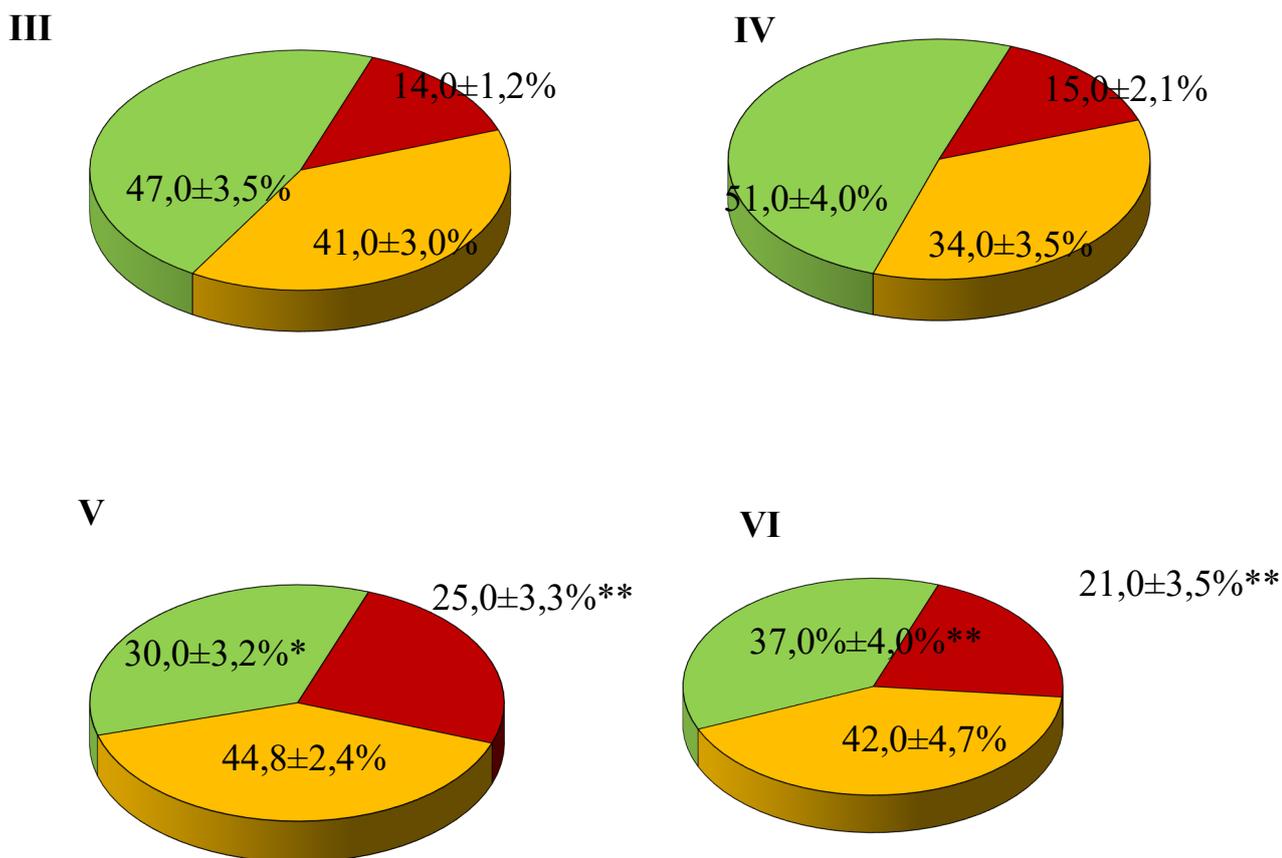


Рисунок 14 - Соотношение периодов разной длительности (в %) в ритмической структуре плавания крыс после введения физ. раствора (I), мелатонина (II), феназепам (III), тофизопама (IV) и комбинации мелатонина с феназепамом (V) и тофизопамом (VI).

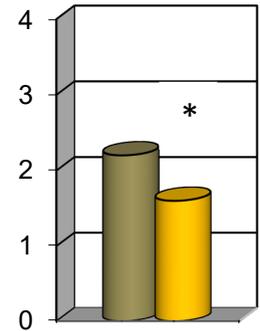
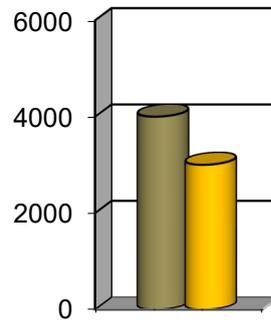
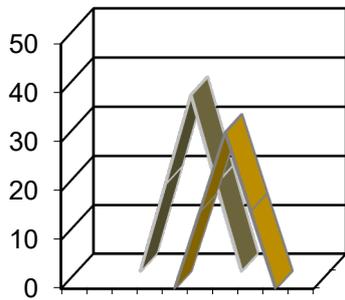
* - статистически достоверные отличия при сравнении с контрольной группой при $P < 0,05$ (** - $P < 0,01$).

■ - циклы менее 6 с; ■ - 6-18 с; ■ - более 18 с.

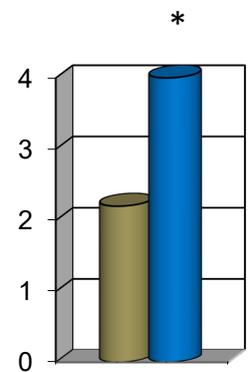
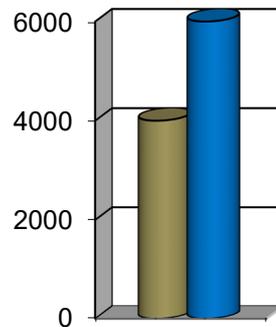
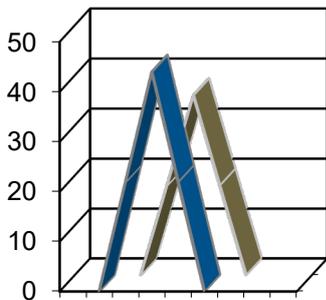
Вариативность сердечного ритма

Исходное определение показателей КИГ у интактных животных выявило существенные индивидуальные колебания в соотношении активностей центрального и автономного отделов регуляции сердечной деятельности. У части животных (20%) доминировала активность симпатического отдела периферической нервной системы и, как следствие, отмечалась низкая вариативность кардиоцик-

II



III



IV

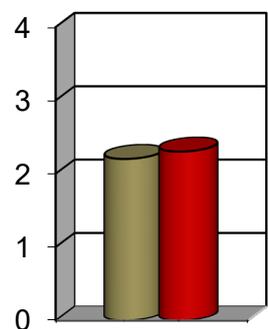
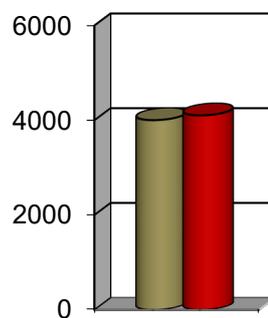
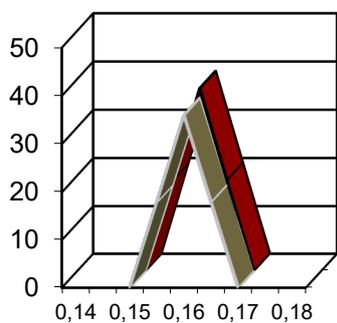


Рисунок 15 - Влияние мелатонина (II), феназепам (III) и их комбинации (IV) на показатели кардиоинтервалограммы в сравнении с физ. раствором (I)

Кривые характеризуют гистографический профиль кардиоинтервалограммы. По оси абсцисс - вариационный размах (с); по оси ординат - абсолютные значения амплитуды моды. Столбики – величины ИН и ИЦ. Светлые гистограммы и столбики - исходные результаты, темные – данные после применения веществ.

В случае совместного введения феназепама и мелатонина показатели КИГ существенно не менялись. Очевидно, ограничение вариативности кардиоциклов, вызываемое анксиолитиком, нивелировалось десимпатизирующим действием гормона. В результате значения моды, ее амплитуды и ИН оказывались даже несколько ниже контрольных данных и совпадали с параметрами интактных животных. Указанная тенденция наблюдалась и при анализе спектральных характеристик сердечного ритма, судя по величине ИЦ (рисунок 15, IV).

Таким образом, мелатонин и бензодиазепиновые анксиолитики демонстрируют сходные хронотропные свойства, сопровождающие развитие противотревожного эффекта. Наблюдаются синхронизация циркадианного ритма подвижности крыс и адаптивные сдвиги во временной динамике плавательного поведения. При совместном введении веществ это действие отчетливо усиливается. Кроме того, обнаружено ограничение вариативности сердечного ритма крыс по данным КИГ при использовании феназепама и тофизопама, которое успешно нивелируется при их совместном введении с мелатонином.

3.2. Влияние мелатонина на выраженность антистрессорных свойств анксиолитиков

3.2.1. Противотревожное действие у стрессированных крыс

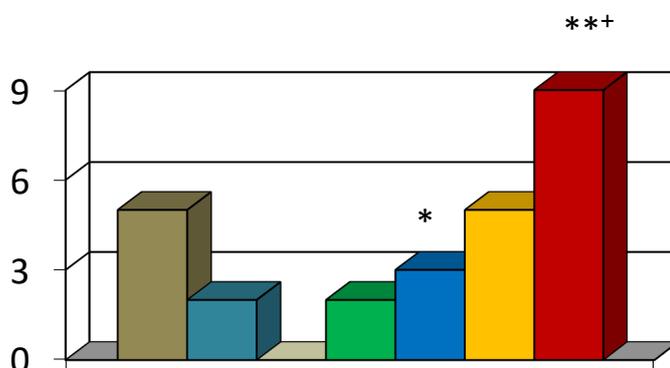
Открытое поле

Иммобилизационно-болевого стресс резко повышал тревожность крыс, судя по данным, полученным при их тестировании в открытом поле. Двигательная ак-

тивность падала, и животные лишь изредка пересекали несколько периферических сегментов (рисунок 16). Также снижалось количество вертикальных стоек, а отверстия вообще не исследовались. Контрольные инъекции физиологического раствора существенно не влияли на поведение крыс. Феназепам восстанавливал подвижность животных до уровня интактных особей, но исследовательская активность оставалась крайне низкой. Мелатонин, напротив, увеличивал число вертикальных стоек, существенно не меняя двигательную активность. Однако наибольшее выраженное ослабление тревоги, индуцированной стрессом, обнаружено при одновременном применении мелатонина и феназепама.

В этом случае наблюдалась определенное усиление их эффектов: высокая двигательная активность крыс сочеталась с активным исследовательским поведением (рисунок 16).

I



II

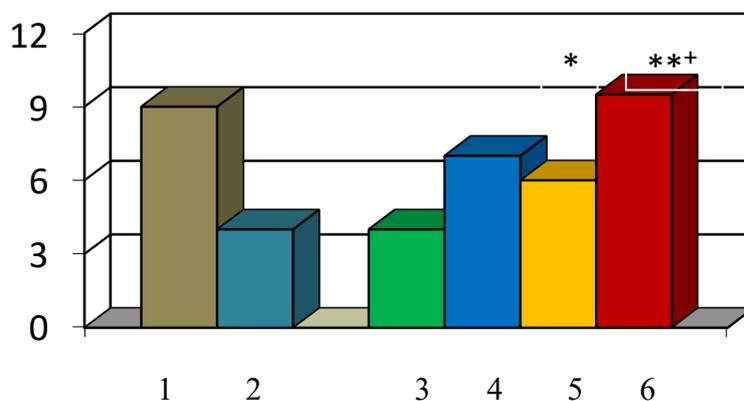


Рисунок 16 - Число пересеченных периферических сегментов (I) и вертикальных стоек (II) в «открытом поле» после введения стрессированным крысам феназепам (4), мелатонина (5) и их комбинации (6) в сравнении с контрольной группой (3)

1 - исходные значения показателей, 2 – результаты после стресса,

* - статистически значимые отличия при сравнении с контролем ($P < 0,05$; ** - $P < 0,01$) и + - изолированным введением веществ.

Многопараметрическая оценка поведения.

В соответствии с полученными данными, стресс вызывал резкое повышение тревожных ответов у животных. Они медленнее спускались с высоты, реже пересекали отверстие и оставляли бокс. Фобические реакции в виде затаивания, пачения, вокализации и прижимания ушей возникали чаще спонтанно и наблюдались всегда при приближении руки экспериментатора. В результате суммарный балл тревожности увеличивался при сравнении с исходными данными (с $11,5 \pm 0,8$ до $20,0 \pm 1,5$; $P < 0,01$) (рисунок 17).

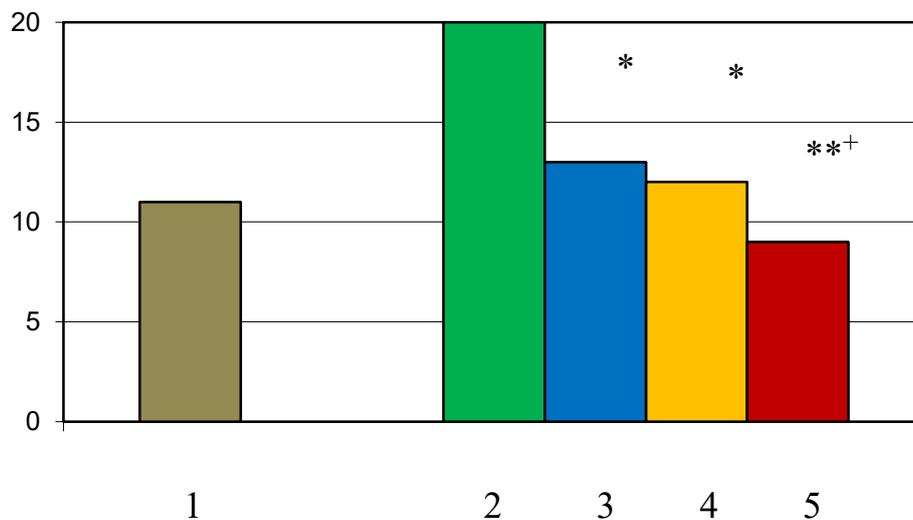


Рисунок 17 - Суммарный балл тревожно-фобических реакций крыс после применения феназепама (3), мелатонина (4) и их сочетания (5) у стрессированных крыс при сравнении с результатами контрольной группы (2)

1 – исходные данные до стрессирования. * - $P < 0,05$ при сопоставлении с 2-й группой.

Феназепам заметно ограничивал анксиогенное влияние стресса. Латентные периоды покидания высоты и прохождения через отверстие бокса сокращались. Фобические реакции не возникали спонтанно и отмечались лишь при приближении руки экспериментатора. В итоге суммарный балл тревожности оказывался достоверно ниже, чем в контрольной группе. Мелатонин также ослаблял обусловленное стрессом усиление тревожных реакций у крыс. При этом гормон мало влиял на выполнение крысами моторных тестов, но при этом ограничивал фобические проявления, вызванные приближением руки экспериментатора. В результате общий балл тревожности статистически значимо уменьшался по сравнению с данными контрольной группы (рисунок 17). При совместном введении наблюдалась своеобразная суммация эффектов обоих препаратов. Животные быстрее выполняли первые моторные тесты, исключая выход из темного бокса. Рука экспериментатора провоцировала фобические реакции в виде прижимание ушей, затаивание, пачение и вокализация и пачение возникали редко. Значения общего балла были ниже, чем в контроле и при отдельном введении препаратов (рисунок 17).

3.2.2. Хронотропные эффекты

Суточная динамика двигательной активности

Повторный стресс у большинства животных вызывал резкую дезорганизацию циркадианного ритма. У отдельных крыс наблюдалось расщепление кривой суточной локомоции на ультрадианные составляющие или даже инверсия ритмики. Вследствие этого снижалась величина AP (с $3,1 \pm 0,3$ до $1,5 \pm 0,25$ у.е.). После контрольного введения физиологического раствора отсутствовали какие-либо до

полнительные сдвиги в паттерне суточной локомоторной активности (рисунок 18, I). Феназепам ограничивал дезорганизацию циркадианной подвижности, обусловленную стрессом (рисунок 18, II). Число переходов по жилой клетке в дневное время падало, и, как следствие этого несколько возрастала AP ($1,3 \pm 0,2$ у.е. в контроле и $1,9 \pm 0,25$ у.е. после введения вещества). Акрофаза ритма у большинства животных приходилась на ночное время

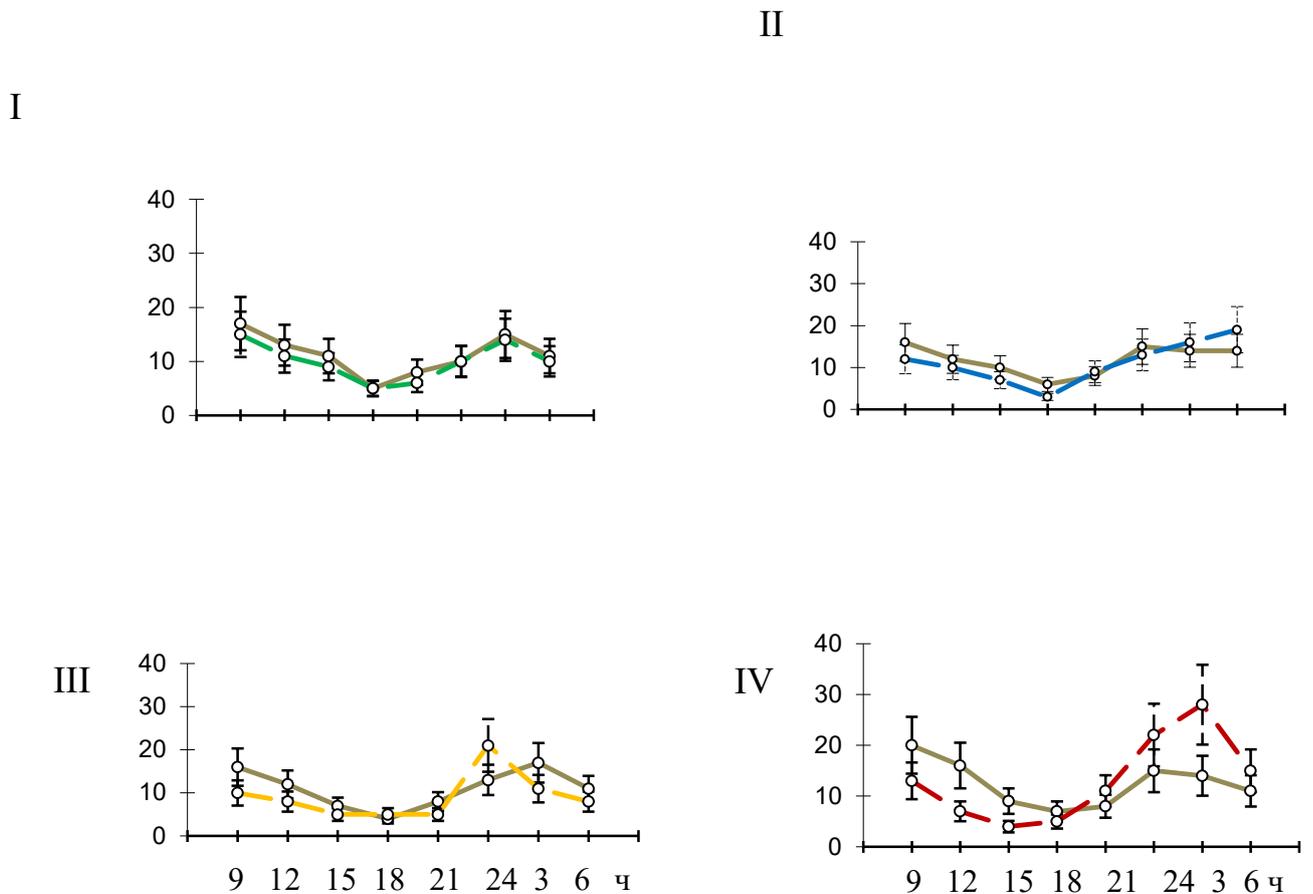


Рисунок 18 - Влияние феназепама (II), мелатонина (III) и их сочетания (IV) на циркадианную подвижность стрессированных крыс в сравнении с контрольным введением физиологического р-ра (I)

Сплошной линией обозначены исходные хронограммы подвижности, пунктирной - после инъекций соответствующих веществ.

Мелатонин оказывал более выраженное синхронизирующее действие, чем феназепам. После его введения отмечено формирование более контрастного ритма двигательной активности у стрессированных особей, если судить по увеличению его амплитуды (до $2,6 \pm 0,25$ у.е., $P < 0,05$). При этом максимум подвижности более чем в 75% случаев приходился на 24-3 часа ночи. При индивидуальном анализе у животных, высокочувствительных к стрессу, синхронизирующее действие мелатонина было выражено гораздо отчетливее.

В большей степени антистрессорное действие проявлялось при совместном применении препаратов. Ночная подвижность, угнетенная стрессом, достоверно восстанавливалась. Днем, напротив, количество переходов заметно уменьшалось. Вследствие этого существенно повышалась АР (до $2,9 \pm 0,2$ у.е. при $P < 0,01$) (рисунок 18, IV).

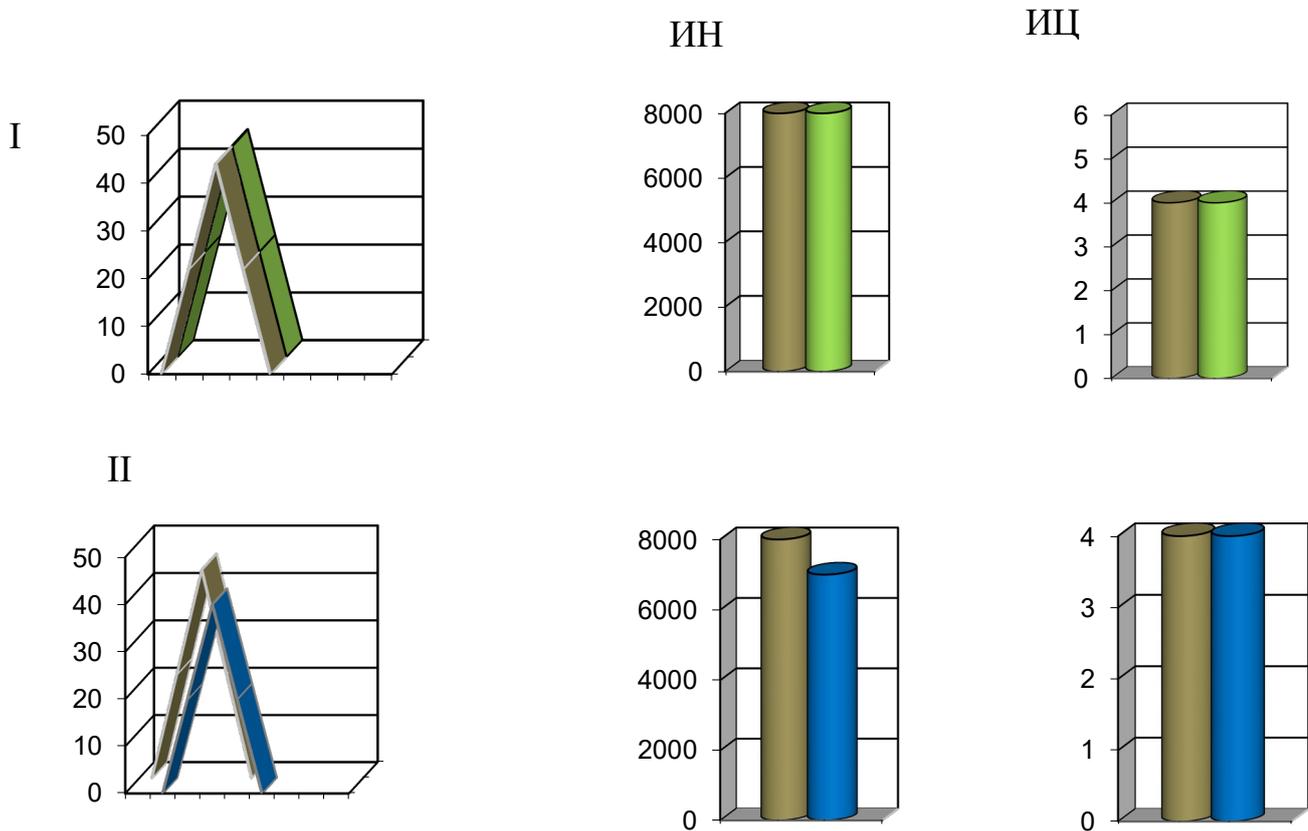
Вариативность сердечного ритма.

Иммобилизационно-болевого стресс вызывал у животных резкое усиление симпатической активности по сравнению с исходными данными. Вариативность сердечного ритма снижалась, мода смещалась влево по оси абсцисс, а её амплитуда росла. В итоге ИН достоверно увеличивался. По данным спектрального анализа, отмечалось усиление мощности медленных волн и индекса централизации.

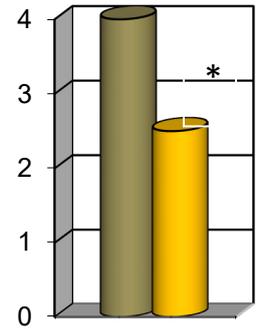
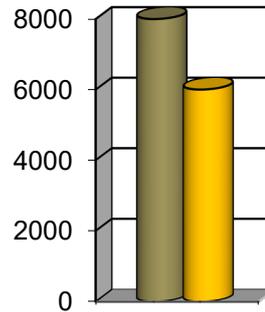
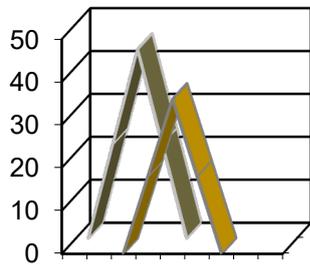
Феназепам несущественно ослаблял обусловленное стрессом повышение симпатического тонуса. Мода несколько увеличивалась, а её амплитуда не менялась. При этом спектральный анализ выявил усиление активности центрального контура управления сердечным ритмом и повышение ИЦ. Тем самым, феназепам вызывал рассогласование между основными и спектральными характеристиками сердечного ритма (рисунок 19).

Мелатонин гораздо более отчетливо ослаблял стресс-индуцированную симпатизацию. Наряду с увеличением моды отмечалось снижение её амплитуды и усиление вариативности кардиоциклов. Наиболее заметные сдвиги обнаружены при анализе волновой структуры ритма. Происходило усиление мощности дыхательных волн и падение ИЦ. При комбинированном введении препаратов показано ослабление симпатической активности, обусловленной стрессом. Об этом сви-

детельствовало усиление вариативности кардиоциклов, увеличение моды со снижением её амплитуды и ИН. Особенно необходимо отметить тот факт, что гормон устранял дисрегуляторные сдвиги, которые вызывал феназепам. ИЦ снижался в соответствии с изменениями основных показателей КИГ (рисунок 19).



III



IV

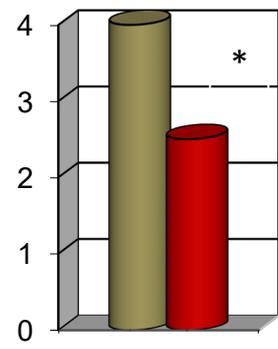
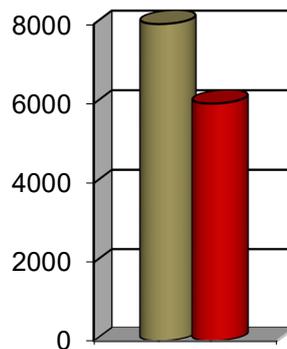
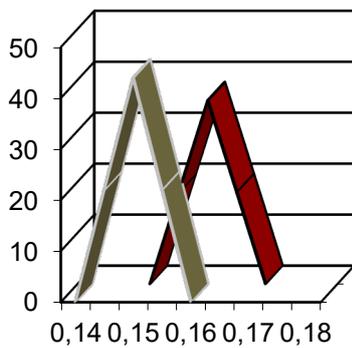


Рисунок 19 - Влияние феназепама (II), мелатонина (III) и их комбинации (IV) на основные и спектральные характеристики КИГ стрессированных крыс в сравнении с введением физиологического раствора (I).

Обозначения как на рисунке 15

Таким образом, на фоне повторного иммобилизационно-болевого стресса у крыс отмечается усиление тревожно-подобных реакций, дезорганизацию циркадианной динамики подвижности и усиление симпатической активности. Феназепам и мелатонин ослабляют анксиогенное и дизритмическое влияние стресса, но наибольший эффект обнаружен при совместном введении веществ. При этом мелатонин, в отличие от феназепама, отчетливо ограничивает симпатизацию сер-

дечного ритма и нивелирует дисрегуляторные сдвиги, обусловленные введением бензодиазепинового анксиолитика.

3.3. Влияние удаления эпифиза на проявление анксиолитического эффекта

После регистрации исходных параметров психоэмоционального состояния и ритмической организации поведения, у части крыс производили хирургическое удаление эпифиза, а другой группе делали ложную операцию (повреждение костей черепа без извлечения железы). Далее, спустя 10 дней после операций проводили повторное тестирование животных по всем использованным методикам. Затем всем особям, наряду с контрольными инъекциями физиологического раствора, вводили феназепам, мелатонин и их комбинацию по стандартной схеме.

3.3.1. Противотревожное действие

Открытое поле.

Изучение поведения крыс выявило усиление тревожных реакций после эпифизэктомии. Животные, подвергнутые этой операции, после помещения в экспериментальную установку долгое время оставались неподвижными. Изредка они принюхивались, но при этом не совершали вертикальных стоек или попыток исследовать отверстие. К концу времени тестирования эти особи обычно пересекали несколько периферических сегментов и никогда не заходили в центральные. В результате двигательная и исследовательская активности заметно снижались по сравнению с исходными определениями (таблица 3). Обнаружено, что ложная операция практически не сказалась на поведении животных.

Результаты применения феназепама, мелатонина и их комбинации у ложнооперированных особей существенно не отличались от ранее описанных у интактных животных (глава 3.1.). Вместе с тем результаты использования веществ у эпифизэктомированных особей были иными. Феназепам несколько усиливал их

подвижность, если судить по количеству пересеченных периферических участков. При этом исследовательское поведение, определяемое по числу вертикальных стоек и исследованных отверстий, не менялось, оставаясь на низком уровне. Мелатонин, напротив, почти не влиял на двигательную активность крыс, но несколько увеличивал число вертикальных стоек. При совместном введении препаратов все исследованные параметры поведения возрастали и достигали уровня интактных и ложнооперированных животных. Однако статистически значимых сдвигов при сравнении с изолированным введением препаратов не обнаружено.

Таблица 3 - Влияние феназепама, мелатонина и их комбинации на показатели поведения в открытом поле эпифизэктомированных крыс

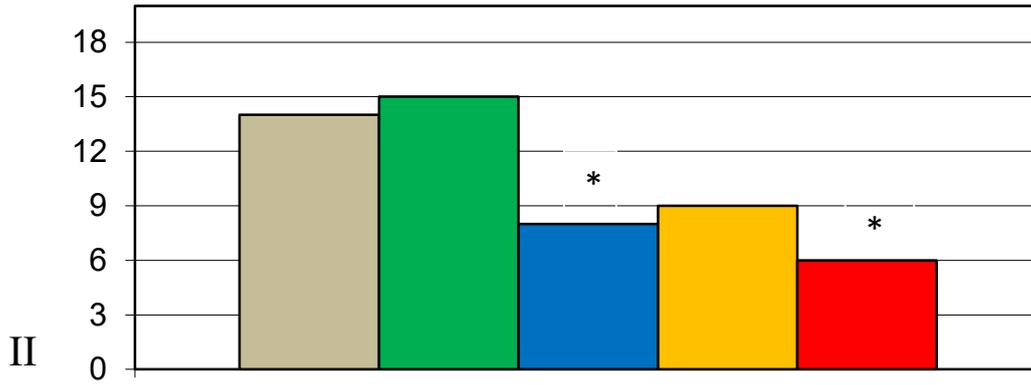
Показатели Группы	Периферические сегменты	Вертикальные стойки	Умывания
ЛО+физ.р-р	10,0±1,7	3,2±1,1	2,5±1,0
ЭЭ+физ.р-р	5,5±0,8	0,75±0,2	0,5±0,1
ЭЭ+феназепам	6,0±1,1	1,2±0,25	1,2±0,4
ЭЭ+мелатонин	6,5±1,3	2,8±0,25	1,5±0,2
ЭЭ+феназепам +мелатонин	9,0±0,9*	2,8±0,3	1,5±0,2

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы, ЭЭ - эпифизэктомированные.

Многопараметрическая оценка поведения.

Ложная операция не вызвала заметных изменений тревожно-фобического уровня крыс, судя по данным этого метода. Выраженность и особенности анксиолитического действия феназепама, мелатонина и их комбинации у этих особей также не отличались от описанных ранее результатов у интактных крыс (рисунок 17).

I



II

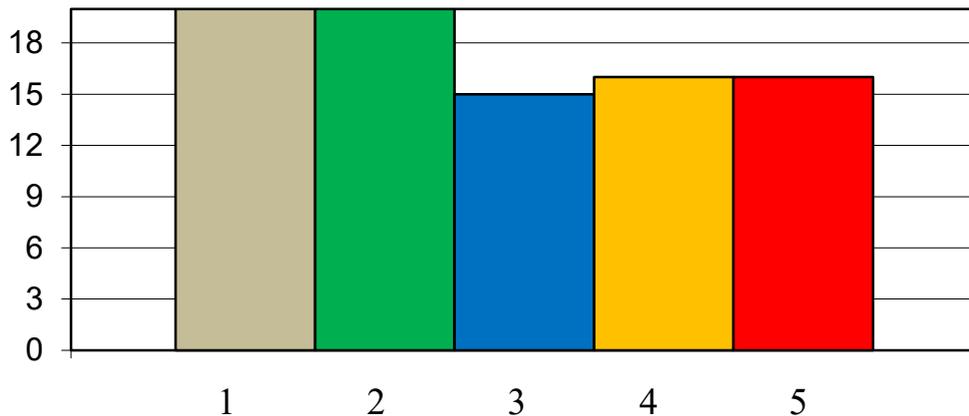


Рисунок 20 - Влияние феназепама, мелатонина и их комбинации на тревожно-фобическое состояние эпифизэктомированных крыс

Столбики – суммарный балл тревожности. 1 – результаты интактных крыс, 2 – введение физ. раствора, 3 – феназепама, 4 – мелатонина, 5 – сочетания феназепама с мелатонином.

* - статистически достоверные отличия при сравнении с контрольной группой при $P < 0,05$

После удаления эпифиза крысы уже внешне казались более тревожными. Спонтанные фобические реакции в виде пачения, затаивания и прижимания ушей чередовались со вспышками агрессии, особенно при взятии корцангом. Феназепам уменьшал латентный период прохождения через отверстие и спуска с высоты, но существенно не влиял на проявления фобических реакций, возникающих на руку экспериментатора. Суммарный балл снижался, но этот сдвиг был выражен в гораздо меньшей степени, чем у ложнооперированных особей. После ис-

пользования мелатонина гораздо реже отмечались фобические реакции в виде прижимания ушей, вокализации и затаивания. При этом время выполнения двигательных тестов практически не менялось. При совместном введении препаратов все регистрируемые показатели оказывались на уровне, отмеченном при их изолированном применении. Усиления эффекта феназепама гормоном не наблюдалось (рисунок 20).

Конфликтная ситуация.

Удаление эпифиза приводило к отчетливому повышению тревожных реакций у животных. Они достоверно реже совершали взятия воды с электрошоковым наказанием или вообще не подходили к поилке (таблица 4). Снижалось также число вертикальных стоек и подходов к поилке без взятия воды. Уменьшалась двигательная активность. При этом поведение ложнооперированных особей не отличалось какими-либо особенностями.

Феназепам увеличивал число холостых подходов к поилке, в то время как количество наказуемых взятий воды существенно не менялось. Двигательная активность несколько возрастала, но при этом вертикальные стойки практически не регистрировались. Мелатонин увеличивал число взятий воды с электрошоковым наказанием, но этот сдвиг не был статистически достоверным. После применения гормона также возрастало количество вертикальных стоек. При совместном применении веществ их противотревожное действие усиливалось. Величины основных параметров поведения достигали значений интактных и ложнооперированных крыс. Но необходимо отметить, что статистически значимой разницы по сравнению с изолированным введением препаратов не обнаружено (таблица 4).

Таблица 4. Влияние феназепама, мелатонина и их комбинации на показатели поведения крыс в конфликтной ситуации

Показатели Группы	Наказуемые взятия воды	Подходы к поилке	Вертикальные стойки	Пересеченные линии
ЛО	3,1±0,2	4,1±0,3	4,0±0,2	25,0±3,0

ЛО+физ. р-р	2,9±0,2	4,4±0,3	3,6±0,3	21,0±3,0
ЛО+феназепам	5,1±1,0*	5,5±1,1*	4,9±1,1	30,0±3,0*
ЛО+мелатонин	4,5±0,6*	3,5±0,5	9,5±1,5**	29,0±3,2
ЛО+феназепам+ мелатонин	9,1±1,0**+	6,5±1,2**	11,2±1,2**	33,0±3,2*
ЭЭ	1,8±0,45	2,6±0,5	2,5±0,2	15,0±3,2
ЭЭ+физ. р-р	1,3±0,12	2,5±0,6	2,0±0,15	13,0±2,3
ЭЭ+феназепам	2,0±0,28	4,2±0,6*	0,5±0,1	20,0±3,5
ЭЭ+мелатонин	2,2±0,55	2,9±0,7	4,5±0,3*	18,0±3,5
ЭЭ+феназепам+ мелатонин	2,7±0,4*	4,2±1,1*	5,0±0,9*	21,0±2,2

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы, ЭЭ - эпифизэктомированные

3.3.2. Хронотропные эффекты

Суточная динамика двигательной активности.

Ложная операция не вызвала каких-либо заметных изменений циркадианного ритма подвижности крыс если сравнивать с данными интактных особей. Удаление эпифиза вызвало ограничение количества переходов крыс по жилой клетке в ночное время и, соответственно, уменьшение AP (с $3,5 \pm 0,3$ у.е. до $2,7 \pm 0,2$ у.е.; $P < 0,05$) (рисунок 21). Возросла подвижность животных в начале темного периода (21 ч), вследствие чего акрофаза ритма у половины особей сместилась на это время.

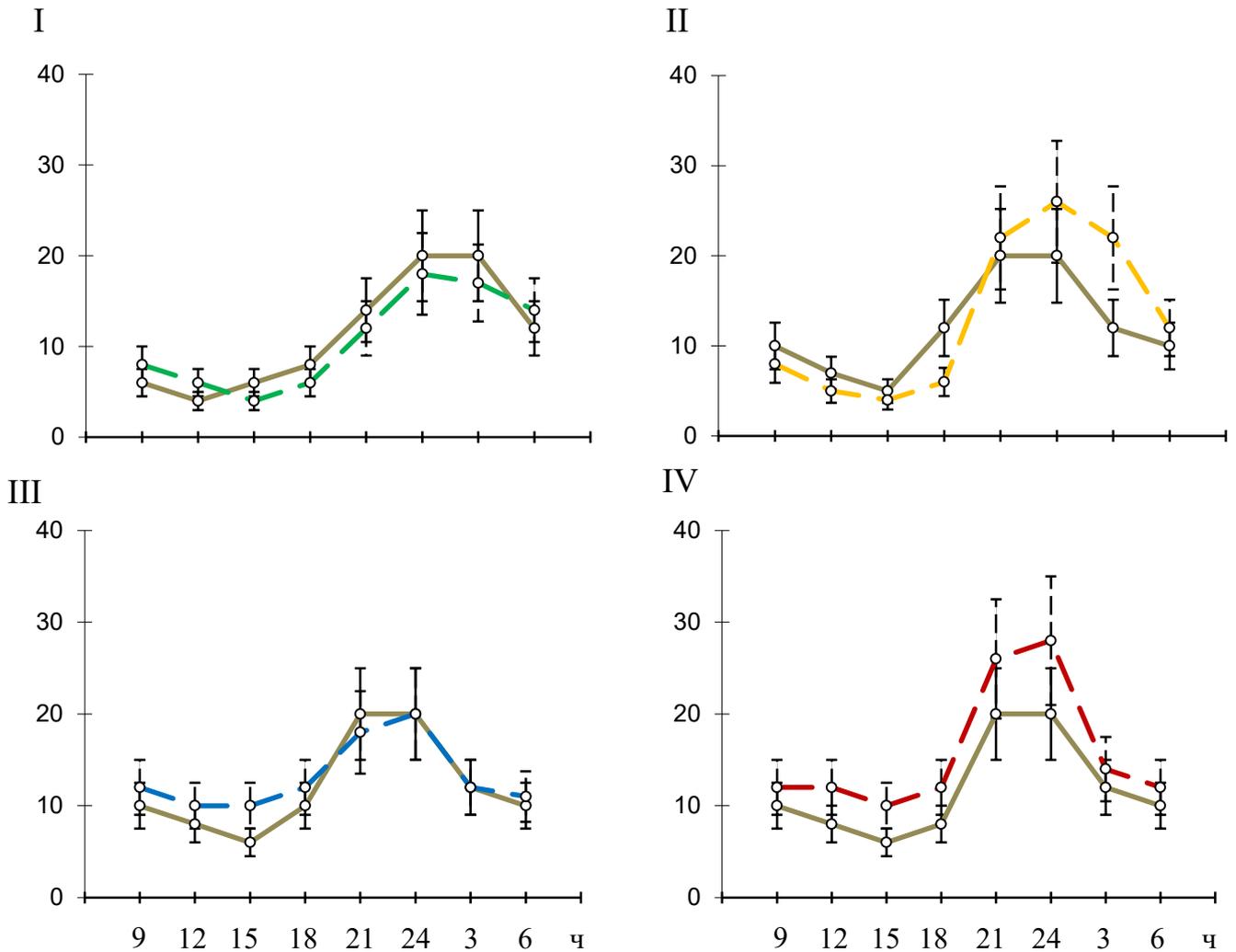


Рисунок 21 - Влияние мелатонина (II), феназепам (III) и их комбинации (IV) на циркадианную подвижность эпифизэктомированных крыс в сравнении с контрольным введением физ. раствора (I)

Обозначения как на рис. 13.

У ложнооперированных крыс, как ранее было обнаружено и у интактных, анксиолитик и эпифизарный гормон при совместном введении способствовали формированию более контрастного ритма суточной локомоции (рисунок 21). У эпифизэктомированных животных мелатонин восстанавливал профиль циркадианного ритма, нарушенный удалением железы. Количество переходов в темной период возрастало, и AP увеличивалась (до $3,2 \pm 0,15$; $P < 0,05$). Феназепам не влиял на ночную подвижность, но усиливал локомоцию в дневное время. В ре-

зультате АР еще больше снижалась (до $2,0 \pm 0,3$ у.е.). При совместном введении веществ наблюдалось одновременное увеличение числа переходов в ночные и дневные часы с некоторым увеличением АР (рисунок 21).

Таким образом, удаление эпифиза нивелирует синхронизирующее действие феназепама на циркадианный ритм локомоторной активности крыс. Мелатонин частично устраняет последствия эпифизарного дефицита, но при совместном введении препаратов не наблюдается формирование более контрастного ритма подвижности, как это было обнаружено у интактных и ложнооперированных животных.

Принудительное плавание.

После эпифизэктомии показатели ритмической структуры поведения заметно менялись (рисунок 22). В частности, доминировали самые короткие (менее 6 с) циклы иммобилизации (более 70%) при резком уменьшении количества длительных эпизодов неподвижности (рисунок 22). Попыток покинуть резервуар с водой животные не предпринимали.

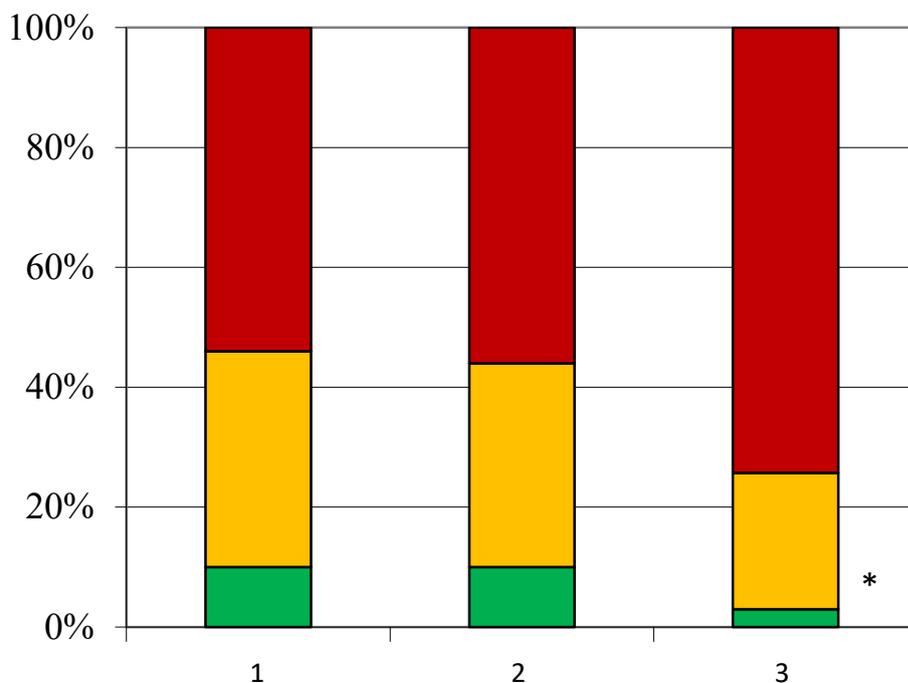


Рисунок 22 - Соотношение периодов разной длительности (в %) в ритмической структуре плавания интактных (1), ложноперирированных (2) и эпифизэктомированных (3) крыс

У ложноперирированных крыс, в соответствии с ранее обнаруженными нами результатами у интактных особей, феназепам и мелатонин вызывали адаптивную перестройку ритмической структуры плавания, увеличивая число продолжительных периодов активного плавания и иммобилизации. Это действие усиливалось при совместном введении препаратов.

У эпифизэктомированных животных мелатонин восстанавливал соотношение периодов разной длительности во временной структуре плавательного поведения. Отмечено увеличение доли продолжительных циклов, как активности, так и иммобилизации. После введения феназепама также отмечено возрастание доли периодов активного плавания более 18 с, но статистически недостоверно.

Таблица № 5. Влияние мелатонина, феназепама и их комбинации на соотношение периодов разной продолжительности (в %) в ритмической структуре плавательного поведения ложноперирированных и эпифизэктомированных крыс.

Показатели Группы	Циклы до 6 с	Циклы 6-18 с	Циклы более 18 с
ЛО	58,0±3,5	33,0±4,5	9,0±1,0
ЛО+физ.р-р	60,0±3,0	32,0±4,0	8,0±0,7
ЛО+мелатонин	42,0±3,2*	42,0±4,2	16,0±2,0**
ЛО+феназепам	50,0±2,4*	37,0±2,0	13,0±1,5*
ЛО+мелатонин +феназепам	35,0±4,0**+	40,0±4,3	25,0±2,5**+
ЭЭ	72,0±4,8	25,0±2,5	3,0±0,6
ЭЭ+физ.р-р	74,0±5,0	23,0±3,2	3,0±0,2
ЭЭ+мелатонин	60,0±3,8*	31,5±4,2	8,5±0,5*

ЭЭ+феназепам	66,0±3,1	30,0±4,0	4,0±0,5
ЭЭ+мелатонин +феназепам	55,0±3,0*	35,0±2,1	10,0±0,6*

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы, ЭЭ - эпифизэктомированные.

При сочетанном использовании препаратов показан рост количества длительных циклов активности и неподвижности, однако эти изменения существенно не превышали результаты изолированного применения мелатонина (таблица 5).

Таким образом, представленные данные свидетельствуют о том, что экстирпация эпифиза повышает выраженность тревожно-подобных реакции и вызывает дезорганизацию ритмической структуры поведения крыс. В этих условиях резко снижается специфическое и хронотропное действие феназепама. Мелатонин отчасти нивелирует последствия эпифизэктомии, но при совместном введении с анксиолитиком его синергизм практически не проявляются.

Заключение. Согласно полученным результатам на всех использованных нами моделях, мелатонин демонстрирует отчетливое противотревожное действие и усиливает специфические эффекты бензодиазепиновых анксиолитиков. Важным слагаемым действия бензодиазепинов являются их хронотропные свойства. Они, как и известный ритмстабилизирующий агент мелатонин, вызывают синхронизация циркадианного ритма локомоторной активности крыс и адаптивные сдвиги во временной динамике принудительного плавания. При совместном введении анксиолитиков и гормона это действие отчетливо усиливается. Кроме того, по данным КИГ, обнаружено ограничение вариативности сердечного ритма крыс при использовании феназепама и тофизопама, которое успешно нивелируется при их совместном введении с мелатонином.

Иммобилизационно-болевой стресс приводит к повышению тревожно-подобных реакций у крыс, дезорганизацию циркадианного ритма двигательной активности и симпатизации сердечного ритма. Феназепам и мелатонин ограничивают анксиогенное и дизритмическое влияние стресса, причем наибольший эффект отмечен при совместном введении препаратов. При этом мелатонин, в отличие от феназепама, отчетливо ослабляет симпатическую активность и ни-

велирует дисрегуляторные сдвиги, обусловленные введением бензодиазепинового анксиолитика у стрессированных крыс.

Специфичность полученных фактов подтверждают опыты с эпифизиэктомированными животными. Удаление железы оказывает отчетливое анксиогенное действие и вызывает нарушения нормальной ритмической структуры поведения крыс. Противотревожное и хронотропное действие феназепамы у этих особей заметно ослабевает. Введение мелатонина частично нивелирует последствия эпифизиэктомии, но способность гормона усиливать эффект анксиолитика заметно ослабевают.

ГЛАВА 4. ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА НА АНТИДЕПРЕССИВНЫЙ ЭФФЕКТ

Проводили сравнительную оценку действия антидепрессивных средств (имипрамина, флуоксетина) и мелатонина при изолированном введении крысам и в комбинации с гормоном. Изучали выраженность специфического действия препаратов и их хронотропной активности. Все исследования выполняли на нормальных крысах и животных, подвергнутых операции эпифизэктомии.

4.1. Влияние мелатонина на выраженность антидепрессивного эффекта у нормальных крыс

4.1.1. Специфическое действие на модели «резерпиновой депрессии»

«Открытое поле»

В соответствии с ранее сделанными наблюдениями, интактные крысы после непродолжительной адаптации обычно пересекали от 10 до 14 периферических сегментов и практически не заходили в центральные участки «поля». Они также совершали от 3 до 6 вертикальных стоек. К концу тестирования подвижность крыс обычно снижалась.

Раунатин, содержащий 90% резерпина, вызывал резкое угнетение двигательной активности крыс. После помещения в «открытое поле» они обычно пересекали лишь 2-3 его периферических сегмента. Примерно 50% крыс, получивших раунатин, так и оставались на протяжении всего времени тестирования в том сегменте поля, куда их поместили изначально (рисунок 23). Исследовательское поведение оказывалось практически полностью подавленным, судя по отсутствию

вертикальных стоек у большинства животных. Имипрамин ослаблял угнетающего влияния раунатина на поведение крыс. Почти все животные пересекали несколько периферических сегментов, хотя в целом подвижность оставалась низкой по сравнению с контрольной группой. Отдельные особи совершали вертикальные стойки и обнюхивали отверстия. Сходное действие оказывал и флуоксетин (рисунок 23). Мелатонин не влиял на двигательную активность животных. Долгое время пребывая в одном из сегментов экспериментальной установки, они совершали вертикальные стойки и иногда умывались.

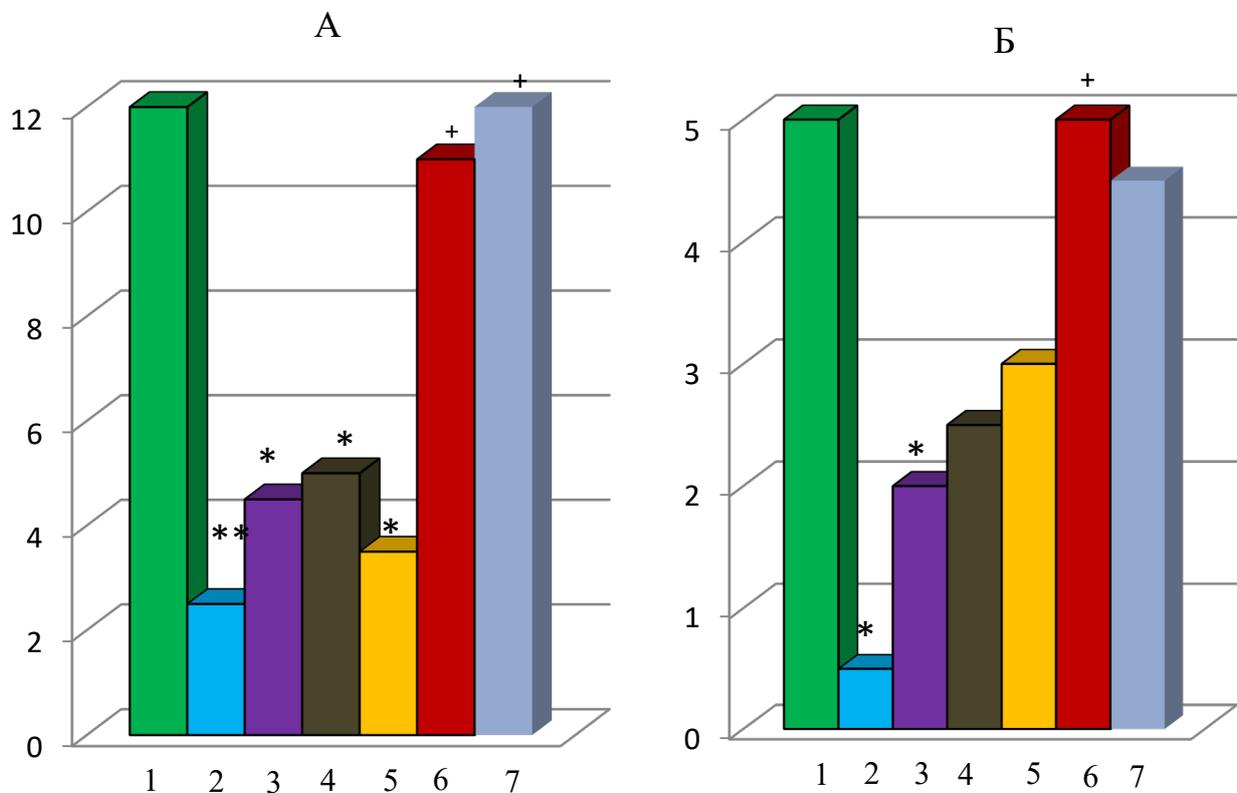


Рисунок 23 - Влияние имипрамина, флуоксетина, мелатонина и сочетания антидепрессантов с гормоном на проявление действия раунатина в «открытом поле» у крыс

Столбики – число пересеченных сегментов поля (А) и вертикальных стоек (Б) для групп животных: 1 – введение физиологического раствора (контроль); 2 – раунатина (4 мг/кг) и на фоне его действия: 3 –имипрамина (10 мг/кг); 4 – флуокс-

етина (5 мг/кг); 5 – мелатонина (0,1 мг/кг); 6 – сочетание имипрамина и мелатонина; 7 – флуоксетина и мелатонина.

*- достоверные различия (при $P < 0,05$) в сравнении с контрольной группой.
** - $P < 0,01$, + -сравнение с результатами отдельного применения имипрамина и флуоксетина.

В наибольшей степени ограничение депрессогенного действия раунатина обнаружено при комбинированном введении антидепрессантов и мелатонина. Число пересеченных периферических сегментов поля достигало уровня контрольных животных. Судя по количеству вертикальных стоек. Возрастала исследовательская активность. В итоге по большинству критериев эффективность комбинации препаратов была достоверно выше, чем при их изолированном применении (рисунок 23).

Блефароптоз.

После введения раунатина развивался либо полный птоз, либо ширина глазной щели существенно уменьшалась, не превышая 0,9 мм (2,5 балла) (рисунок 24). Имипрамин и флуоксетин ослабляли развитие блефароптоза (1,7– 1,9 баллов; $P < 0,05$). Мелатонин также несколько уменьшал выраженность блефароптоза, но его действие не выходило за рамки недостоверной тенденции (2,2+0,7 балла).



Рисунок 24 - Блефароптоз после введения раунатина у одной из крыс (К-5). Слева контрольное животное (К-1).

При сочетанном использовании антидепрессантов и мелатонина обнаружено ослабление блефароптоза, причем выраженность этого эффекта превосходила результаты, отмеченные при изолированном применении препаратов (рисунок 25).

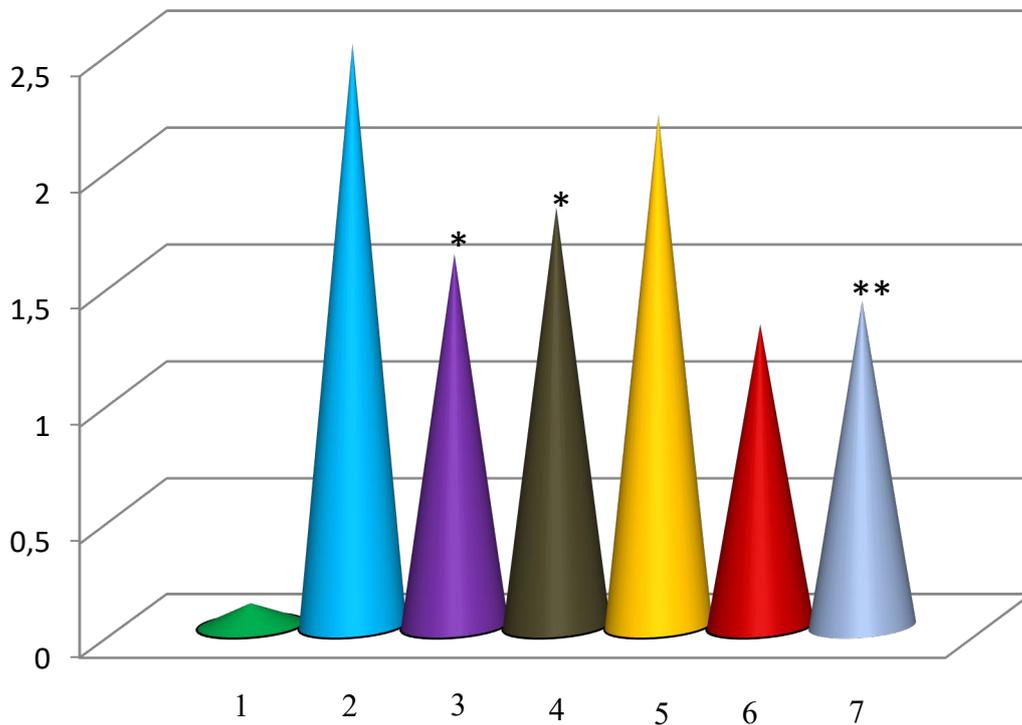


Рисунок 25 - Влияние имиπραмина, флуоксетина, мелатонина и их комбинации на степень блефароптоза (в баллах), вызванного применением раунатина

Столбики - группы животных с введением: 1 – физиологического раствора (контроль); 2 – раунатина; 3 – имиπραмина; 4 – флуоксетина; 5 – мелатонина; 6 – комбинация раунатина, имиπραмина и мелатонина; 7 – сочетание раунатина, флуоксетина и мелатонина.

* - статистически достоверные отличия при сравнении с группой, получавшей раунатин.

Ректальная температура.

Рунафин снижал значения ректальной температуры более чем на 0,7⁰С. Имипрамин и флуоксетин сходным образом и значительно ослабляли этот эффект (рисунок 26). Мелатонин также в некоторой степени ограничивал гипотермическое действие депрессогена, но этот сдвиг оставался в рамках недостоверной тенденции. В случае сочетанного введения гормона с антидепрессантами отмечено максимальное ослабление гипотермии. Абсолютные значения ректальной температуры в этом случае оказывались почти приближены к нормальным величинам (рисунок 26).

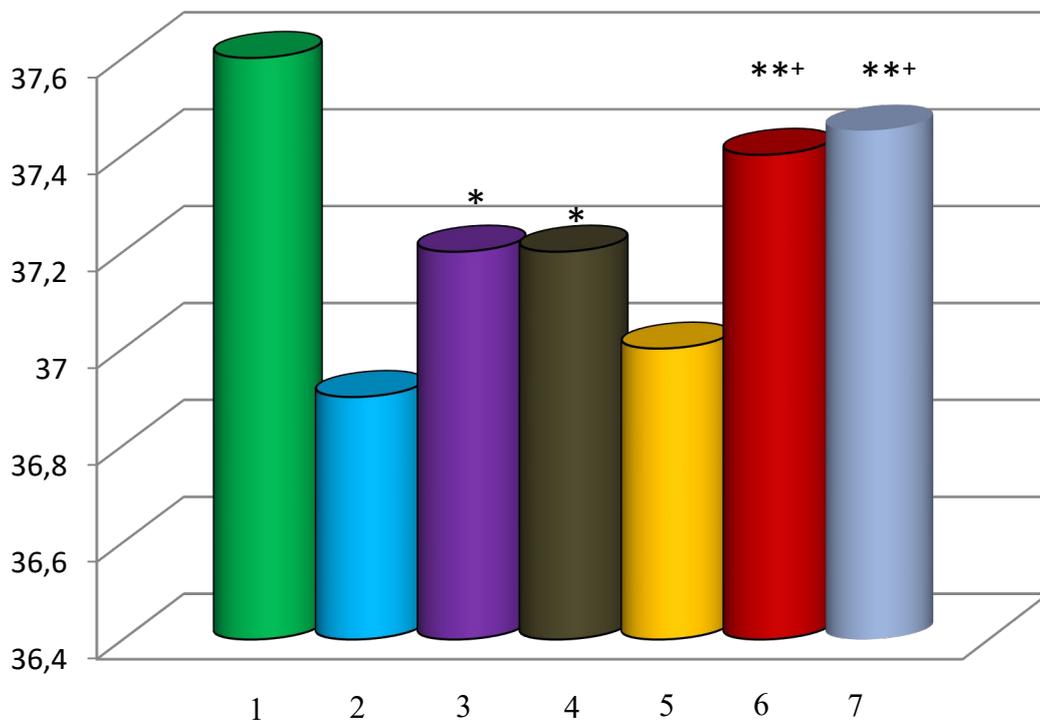


Рисунок 26 - Влияние имипрамина, флуоксетина, мелатонина и комбинации антидепрессантов с гормоном на гипотермию, вызванного введением раунафина

Столбики - группы животных с введением: 1 – физиологического раствора (контроль); 2 – раунафина; 3 – имипрамина; 4 – флуоксетина; 5 – мелатонина; 6 – комбинация раунафина, имипрамина и мелатонина; 7 – сочетание раунафина, флуоксетина и мелатонина.

* - статистически значимые различия при сравнении с отдельным введением раунатина. + - достоверные сдвиги при сопоставлении с изолированным применением антидепрессантов.

Таким образом, имипрамин и флуоксетин ослабляют поведенческое угнетение, блефароптоз и гипотермию, вызванные введением раунатина. Мелатонин заметно уступает по силе антирезерпинового эффекта антидепрессантам, но отчетливо потенцирует их действие.

4.1.2. Хронотропные эффекты

Суточная динамика двигательной активности.

Контрольные инъекции физиологического раствора не вызывали заметных изменений в профиле кривой циркадианной подвижности. Можно отметить лишь некоторое повышение активности крыс сразу после инъекции и в утренние часы, предшествующие кормлению.

Мелатонин, в соответствии с ранее сделанными наблюдениями, вызывал усиление ночной подвижности крыс, при этом акрофаза ритма смещалась на ранние утренние часы. Количество переходов в дневное время, напротив, сокращалось, что в итоге приводило к увеличению AP (с $3,2 \pm 0,2$ до $4,3 \pm 0,25$ у.е.; $P < 0,05$) (таблица 6).

Имипрамин существенным образом изменял циркадианный ритм подвижности крыс. Наши данные совпали с наблюдениями Э.Б. Арушаняна и В.А. Батурина [17], согласно которым вещество вызывало нарастание активности в ночные часы, особенно во вторую половину ночи. В частности, в интервале от 3 ч до 6 ч число пробежек по индивидуальным жилым клеткам было заметно больше, чем до применения антидепрессанта. В результате на это время смещалась и акрофаза ритма. Дневная локомоция под действием вещества существенно не менялась. Следствием указанных сдвигов явилось значимое увеличение значений амплитуды ритма двигательной активности ($4,7 \pm 0,4$ у.е.; $P < 0,05$) (таблица 6).

Большое значение для проявления эффекта имиπραмина имел исходный профиль локомоторной активности. Если ритм подвижности отличался хорошей организацией с выраженным преобладанием числа переходов в темновой период и четкой акрофазой, то действие вещества было выражено не столь заметно. В то же время при использовании у животных со сглаженным ритмом и слабо выраженной акрофазой активирующее влияние имиπραмина на локомоторную активность в ночное время было выражено сильнее, что способствовало усилению контрастности ритма и стабилизации его акрофазы (таблица 6).

Таблица 6 - Влияние флуоксетина, имиπραмина, мелатонина и их комбинации на суточный ритм подвижности крыс

Группы животных \ Часы		Дневная подвижность	Ночная подвижность	Амплитуда ритма
Интактные	М	5,0	16,0	3,2
	м	1,0	3,0	0,2
Контроль (физ. р-р)	М	4,9	16,0	2,8
	м	1,1	2,1	0,2
Мелатонин (0,1 мг/кг)	М	4,9	19,6	4,0*
	м	0,9	1,5	0,3
Имипрамин (10 мг/кг)	М	5,8	27,0	4,7*
	м	1,1	2,5	0,5
Флуоксетин (5 мг/кг)	М	6,0	24,0	4,0*
	м	2,0	2,2	0,2
Мелатонин+ имипрамин	М	5,3	27,5	5,2**
	м	1,2	2,0	0,35
Мелатонин+ флуоксетин	М	4,7	28,2	6,0***+
	м	2,5	3,1	0,35

Примечание: * - значимый сдвиг ($P < 0,05$) при сопоставлении с контрольной группой.
+ - соотношение с изолированным введением препаратов

Флуоксетин также повышал подвижность крыс в ночные часы, увеличивая амплитуду ритма (до $4,0 \pm 0,15$ у.е.; $P < 0,05$), хотя этот эффект был выражен слабее, чем у имиπραмина. Акрофаза ритма при этом не смещалась и регулярно приходилась на 24 ч. При совместном введении мелатонина с антидепрессантами отмечалось усиление синхронизирующего эффекта. Контрастность суточного ритма за-

метно возрастала, и AP еще больше увеличивалась. Статистически достоверные изменения при сравнении с изолированным введением препаратов обнаружены в случае комбинированного введения флуоксетина и мелатонина (AP – $6,0 \pm 0,3$ у.е., $P < 0,05$) [26].

Принудительное плавание.

В соответствии с описанными ранее фактами, плавательное поведение интактных крыс при наличии индивидуальных особенностей в целом характеризовалось равными долями активного, пассивного плавания и иммобилизации. Во временной динамике поведения преобладали циклы малой и средней длительности. Контрольные инъекции физиологического раствора незначительно увеличивали долю неподвижности в основном за счет ее коротких периодов. Мелатонин статистически значимо ограничивал число самых коротких (менее 6 с) циклов и активности, и неподвижности, что привело к снижению показателя депрессивности (рисунок 27).

Имипрамин существенно менял статические показатели плавания и его ритмическую структуру. Антидепрессант увеличивал продолжительность времени иммобилизации, уменьшая число ее коротких циклов. Заметно возрастало количество эпизодов неподвижности длительностью от 6 с до 18 с и более 18 с. В меньшей степени увеличивались количество и продолжительность эпизодов активного плавания. Крысы чаще предпринимали попытки покинуть резервуар с водой. Доля пассивного плавания под влиянием имипрамина выраженно снижалась. Более мощное и продолжительное плавание чередовалось с длительными эпизодами отдыха. Соответственно уменьшался и ритмологический показатель депрессивности, что свидетельствовало об увеличении среднего периода колебаний неподвижность-плавание, а также о нарастании амплитуды колебательного процесса (рисунок 27).

Флуоксетин усиливал долю активного плавания крыс. Ее возрастанию сопутствовало ограничение общего времени иммобилизации. Наиболее заметные изменения обнаружены в ритмической структуре плавательного поведения. Вещество повышало количество длительных периодов активного плавания. Как пра-

вило, они завершались попытками крыс покинуть резервуар с водой. Эти изменения во временной динамике поведения привели к достоверному уменьшению ритмологического показателя депрессивности при сравнении с данными контрольных животных. В случае сочетанного введения антидепрессантов и мелатонина происходило потенцирование описанных эффектов и наиболее отчетливая адаптивная перестройка плавания. Продолжительные циклы активности сменялись с не менее длительными периодами отдыха. Эти сдвиги в ритмической структуре поведения привели к статистически достоверному снижению показателя депрессивности по сравнению с результатами, изолированного введения веществ (рисунок 27).

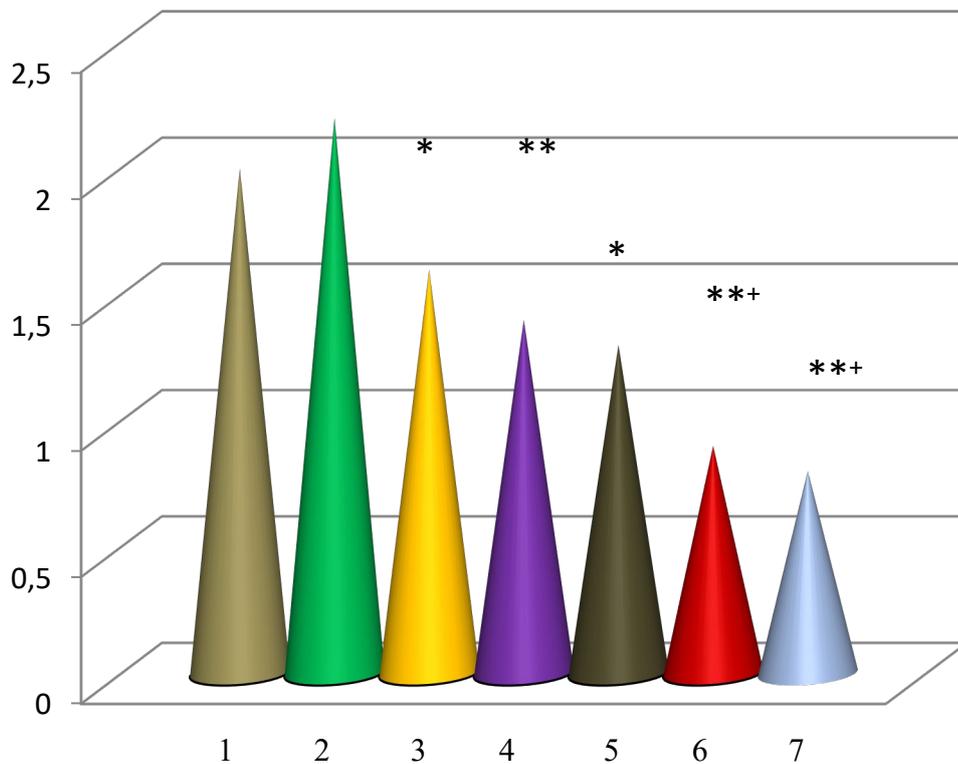


Рисунок 27 - Влияние антидепрессантов, мелатонина и их комбинации на ритмологический показатель депрессивности.

Столбиками обозначены значения показателя у интактных крыс (1), после контрольных инъекций физ. раствора (2), мелатонина (3), имипрамина (4), флуоксетина (5), комбинации имипрамина и мелатонина (6), флуоксетина и мелатонина (7)

Таким образом, согласно представленным фактам, имипрамин и флуоксетин отчетливо ослабляют все проявления «резерпиновой депрессии» у крыс. Мелатонин, уступая антидепрессантам по выраженности антирезерпинового эффекта, заметно потенцирует их специфическое действие. Кроме того, все исследуемые вещества демонстрируют хронотропную активность, способствуя синхронизации циркадианного ритма локомоторной активности крыс и адаптивной перестройке временной динамики плавания со снижением показателя депрессивности. При этом эпифизарный гормон также усиливает ритмстабилизирующее действие антидепрессантов.

4.2. Влияние эпифизэктомии на проявление антидепрессивного эффекта

В одной группе животных проводили хирургическую операцию удаления эпифиза, другим делали ложную операцию (вскрытие черепной коробки без экстирпации железы). Затем (спустя 10 дней) оценивали поведение крыс, сравнивая результаты ложнооперированных и эпифизэктомированных особей. Далее животным вводили флуоксетин, мелатонин и их комбинацию по стандартной схеме.

4.2.1. Модель «резерпиновой депрессии»

«Открытое поле».

Удаление эпифиза вызывало угнетение двигательной и исследовательской активности крыс в «открытом поле». Почти все время тестирования животные находились в одном из периферических сегментов. Редко эти особи делали вертикальные стойки и умывались. При этом ложная операция заметно не повлияла на поведение крыс. Отмечались незначительные колебания основных показателей, которые не находились в рамках естественных индивидуальных различий.

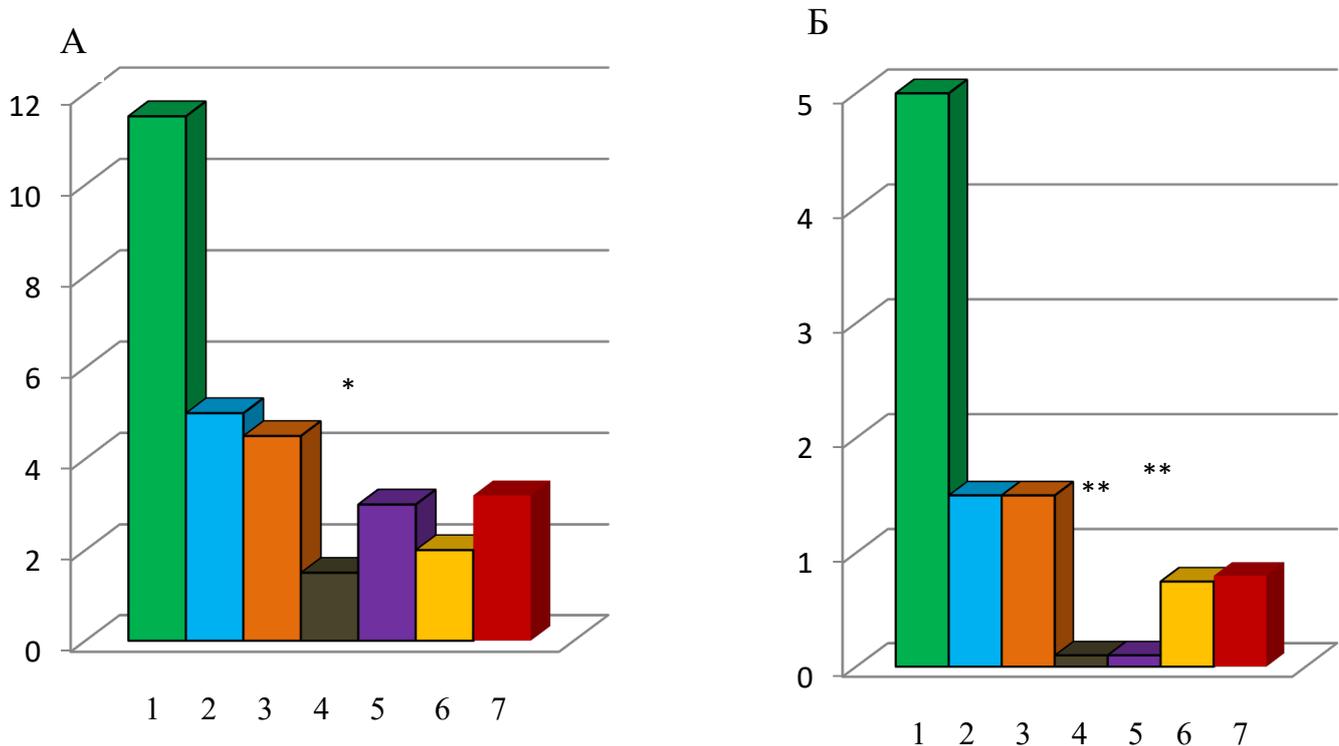


Рисунок 28 - Влияние флуоксетина, мелатонина и их комбинации на проявления «резерпинового синдрома» в тесте «открытое поле» у эпифизэктомированных крыс

Столбиками обозначены количества пересеченных сегментов поля (А) и вертикальных стоек (Б) для групп животных: 1 – ложнооперированных; 2 – эпифизэктомированных (ЭЭ) и использование у них; 3 – физ. раствора (контроль); 4 – раунатина и на фоне его действия; 5 – флуоксетина; 6 – мелатонина; 7 – сочетание флуоксетина и мелатонина.

* - достоверные различия (при $P < 0,05$) в сравнении с контрольной группой (** - $P < 0,01$).

Эпифизэктомия, в отличие от ложной операции, усиливала депрессогенное действие раунатина. Крысы этой группы практически не перемещались в пределах экспериментальной установки ($1,4 \pm 0,2$ сегментов) (рисунок 28). Не было зарегистрировано ни одной вертикальной стойки. Другими словами, отмечалось практически полное поведенческое угнетение. Антирезерпиновое действие флуоксети-

на у этих животных проявилось лишь в некотором повышении подвижности без существенного влияния на исследовательскую активность. Введение мелатонина не вызвало каких-либо изменений основных показателей поведения, исключая единичные вертикальные стойки у 50% особей. В случае сочетанного введения антидепрессанта и гормона отмечалось суммация описанных сдвигов: весьма ограниченное усиление двигательной активности сопровождалось некоторым увеличением числа исследовательских актов. В любом случае, каждый из этих сдвигов не превышал значения, полученные при изолированном применении веществ (рисунок 28).

Блефароптоз.

После введения раунатина у 70% животных с удаленной железой развивался полный птоз, а еще у 30% особей ширина глазной щели не превышала 0,5 мм (рисунок 28).

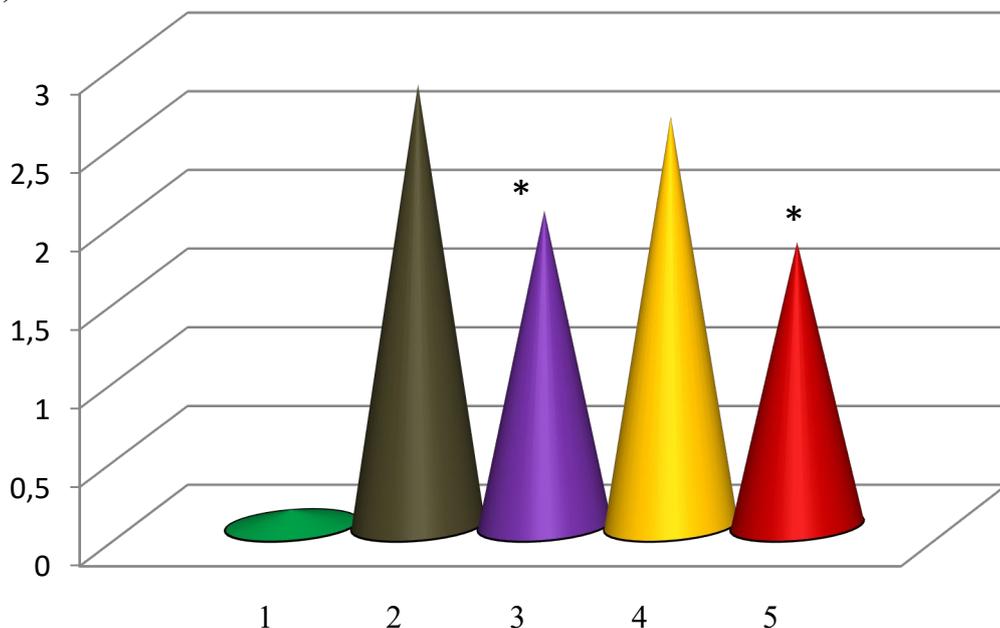


Рисунок 29 - Влияние флуоксетина, мелатонина и их комбинации на выраженность блефароптоза (в баллах), вызванного введением раунатина у эпифизэктомированных крыс

Столбиками обозначены показатели для групп животных: 1 – использование физ. раствора (контроль), 2 - раунатина и на фоне его действия: 3 – флуоксетина; 4 – мелатонина; 5 – сочетание флуоксетина и мелатонина.

* - достоверные различия (при $P < 0,05$) в сравнении со 2-й группой.

Флуоксетин ослаблял выраженность блефароптоза, но этот эффект проявлялся слабее, чем у ложноперирированных особей. Мелатонин заметно не влиял на выраженность блефароптоза, но несколько потенцировал действие флуоксетина при совместном введении веществ (рисунок 29).

Ректальная температура.

Эпифизэктомия, в отличие от ложной операции несколько усиливала гипотермическое действие раунатина, хотя этот сдвиг не был статистически достоверным (36,6⁰С и 36,9⁰С соответственно).

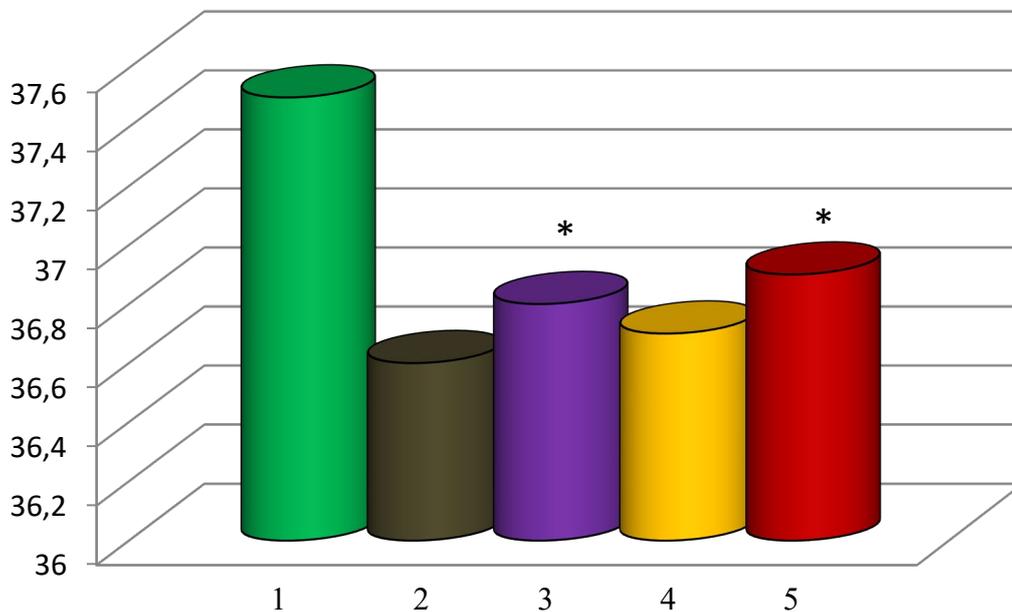


Рисунок 30 - Влияние флуоксетина, мелатонина и их комбинации на гипотермию, вызванного введением раунатина у эпифизэктомированных крыс

Столбиками обозначены показатели для групп животных: 1 – использование физ. раствора (контроль), 2 - раунатина и на фоне его действия: 3 – флуоксетина; 4 – мелатонина; 5 – сочетание флуоксетина и мелатонина.

* - достоверные различия (при $P < 0,05$) в сравнении со 2-й группой.

Флуоксетин значительно ослаблял индуцированную раунатином гипотермию, хотя это действие было выражено слабее, чем у интактных крыс (рисунок 30). Мелатонин действовал сходным образом, но его эффект был выражен слабее и не носил статистически достоверного характера. При сочетанном использовании антидепрессантов с мелатонином показано наибольшее ослабление гипотермии.

Таким образом, опираясь на полученные факты, можно сделать вывод, что удаление эпифиза потенцирует проявления «резерпинового синдрома» у крыс, ослабляет специфическое действие флуоксетина и способность мелатонина усиливать действие антидепрессанта.

4.2.2. Хронотропное действие

Суточный ритм двигательной активности.

Как было обнаружено в наших предыдущих исследованиях, экстирпация эпифиза привела к угнетению подвижности крыс в ночное время с уменьшением значений AP (с $3,6 \pm 0,2$ у.е. до $2,6 \pm 0,3$ у.е.; $P < 0,05$).

Таблица 7 - Влияние антидепрессантов, мелатонина и их комбинации на суточный ритм локомоции эпифизэктомированных крыс

Группы Животных \ Часы		Дневная подвижность	Ночная подвижность	Амплитуда ритма
ЛО	М	6,0	21,6	3,6
	М	1,2	2,0	0,2
ЭЭ	М	5,5	15,4	2,6
	М	1,7	2,5	0,3
ЭЭ+физ.р-р	М	4,7	12,0	2,5
	М	1,4	2,0	0,1
ЭЭ+мелатонин	М	5,5	16,5	3,0*
	М	1,0	2,0	0,15
ЭЭ+флуоксетин	М	8,0	21,6	2,7
	М	1,8	2,1	0,2
ЭЭ+мелатонин+флуоксетин	М	6,3	19,6	3,1*
	М	1,4	2,0	0,25

Примечание: ЭЭ – эпифизэктомия, * - достоверные отличия при сравнении с контрольной группой ($P < 0,05$).

Акрофаза ритма сглаживалась и приходилась на 21-24 ч. При этом ложная операция не вызвала каких-либо изменений профиля циркадианной локомоции. Мелатонин частично восстанавливал структуру циркадианного ритма, нарушен-

ную удалением железы. Количество переходов по клетке в темновой период возрастало, и AP увеличивалась (до $3,0 \pm 0,15$; $P < 0,05$). Флуоксетин повышал как ночную, так и дневную подвижность крыс, в результате чего значения AP существенно не менялись (таблица 7). В отличие от ложнооперированных животных, у эпифизэктомированных особей не отмечено стабилизации и повышения четкости акрофазы после введения антидепрессанта. При совместном введении веществ наблюдалось преобладающее увеличение числа переходов в ночные часы с некоторым увеличением AP, не превышавшим, впрочем, результаты изолированного применения препаратов. Между тем, эффекты флуоксетина, мелатонина и их комбинации у ложнооперированных особей существенно не отличались от ранее приведенных данных, полученных у интактных особей.

Принудительное плавание.

Ложная операция не вызвала изменений структуры плавательного поведения крыс и фармакологического ответа на введение исследуемых препаратов. Эпифизэктомия, в соответствии с ранее описанными результатами (глава 3), приводила к росту числа самых непродолжительных (менее 6 с) циклов неподвижности (более 70%) при отчетливом уменьшении числа периодов большей длительности (рисунок 30). В результате повышался интегральный показатель – индекс депрессивности.

У эпифизэктомированных крыс мелатонин частично восстанавливал соотношение периодов разной длительности во временной структуре плавательного поведения. Отмечено увеличение доли продолжительных циклов как активности, так и иммобилизации. После введения флуоксетина также обнаружено возрастание доли периодов активного плавания средней и большей длительности. Индекс депрессивности снижался, но этот сдвиг не был достоверным (рисунок 31).

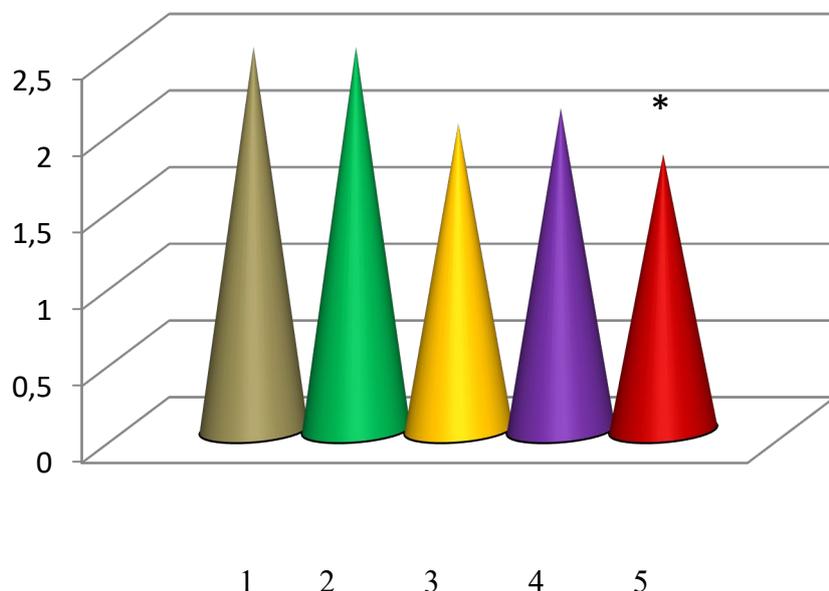


Рисунок 31 - Влияние мелатонина, флуоксетина и их комбинации на ритмологический индекс депрессивности у эпифизэктомированных крыс

Конусы – значения показателя у интактных животных (1), после введения физ. раствора (контроль) (2), мелатонина (3), флуоксетина (4), комбинации мелатонина и флуоксетина (5).

В случае совместного введения препаратов показаны наиболее выраженные адаптивные изменения в ритмической структуре плавания и снижение показателя депрессивности, однако, они не являлись статистически достоверными при сравнении с результатами изолированного применения веществ.

Заключение. Мелатонин, обладая собственной антидепрессивной активностью, способен усиливать действие традиционных антидепрессантов. Удаление эпифиза, напротив, усиливает депрессогенное действие раунатина и вызывает нарушения в нормальной организации ритмической структуры поведения крыс. В этих условиях снижается специфическое и хромотропное действие антидепрессанта флуоксетина. Мелатонин отчасти нивелирует последствия экстирпации железы, но при совместном введении с антидепрессантом синергизм у эпифизэктомированных животных резко ослабевает.

ГЛАВА 5. МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ СВИДЕТЕЛЬСТВА АНТИСТРЕССОРНОГО ДЕЙСТВИЯ

У животных, которых подвергли хроническому иммобилизационно-болевому стрессу, оценивали влияние феназепама, мелатонина, а также их сочетанного использования на морфологические изменения в желудке, надпочечниках и тимусе крыс. Наряду с этими оценивали состояние антиоксидантной системы переднего мозга стрессированных крысы сдвиги, возникающие после отдельного и сочетанного применения психотропных препаратов с мелатонином.

5.1. Морфологические маркеры стресс-реакции

Вес тимуса и надпочечников.

В соответствии с общеизвестными фактами, хронический стресс вызвал инволюцию тимуса у животных контрольной группы.

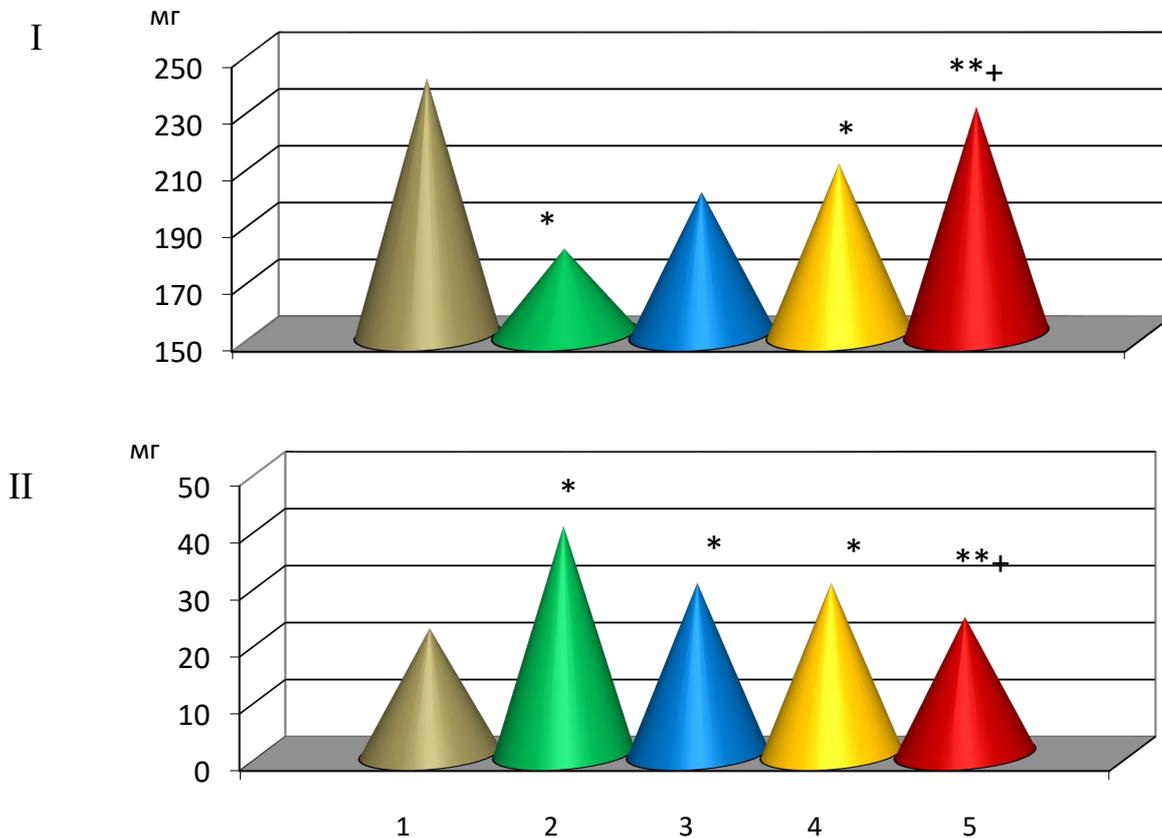


Рисунок 32 - Влияние феназепама (3), мелатонина (4) и их комбинации (5) на вес тимуса (I) и надпочечников (II) стрессированных крыс

1 – исходные данные, 2 – результаты контрольной группы.

Снижение его веса оказалось достоверным по сравнению с данными интактных крыс. Точно также статистически значимо увеличивалась масса надпочечников (рисунок 32). Феназепам несколько ограничил процессы инволюции тимуса, но эти изменения не выходили за рамки недостоверной тенденции. При этом анксиолитик достоверно ограничивал выраженность гипертрофии надпочечников (рисунок 32). Более комплексный антистрессорный эффект продемонстрировал мелатонин. После его введения отчетливо (статистически достоверно по сравнению с контролем) уменьшались как инволюционные изменения в тимусе, так и гипертрофические процессы в надпочечниках. Однако, наиболее выраженное антистрессорное действие было показано при совместном введении феназепама и мелатонина. В этом случае отмечены минимальные отклонения веса тимуса и надпочечников от показателей контрольной группы (рисунок 32).

Гистологические изменения в тимусе и надпочечниках.

В целом, во всех случаях тимус имел характерное строение: прослеживалось деление на корковый и мозговой слой. Корковое вещество образовано плотно расположенными лимфоцитами. В мозговом веществе тельца Гассалья единичные, мелкие в виде полупрозрачных «зёрен». При гистохимической окраске пикрофуксином по Ван Гизону селективно выявлялась соединительная ткань капсулы и перегородок железы без видимой патологии.

Следует обратить внимание, что при сравнительном изучении микропрепаратов тимуса у стрессированных животных, получавших физиологический раствор (контроль), прослеживалось явление слипания лимфоцитов в корковом слое, так называемая картина «звёздного неба», когда в кортексе становятся заметными межклеточное вещество и клетки стромы. При большом увеличении микроскопа (x 100) в лимфатических сосудах и междуточной ткани определяются апоптотиче-

ские тельца. При этом у интактных животных эти изменения не просматривались – лимфоциты в коре располагались равномерно.

В тимусе у крыс, получавших феназепам, мелатонин и комбинацию исследуемых веществ, слипание лимфоцитов в коре были выражено слабее, чем у контрольных особей. В корковом слое во всех наблюдениях отсутствовали явления лимфоцитарного опустошения или признаки инверсии слоёв. Проводя аналогию с человеческими объектами, эти изменениями соответствуют акцидентальной трансформации вилочковой железы 1-2 фазы у детей, что может свидетельствовать об активации иммуногенеза в этом органе (рисунок 33).

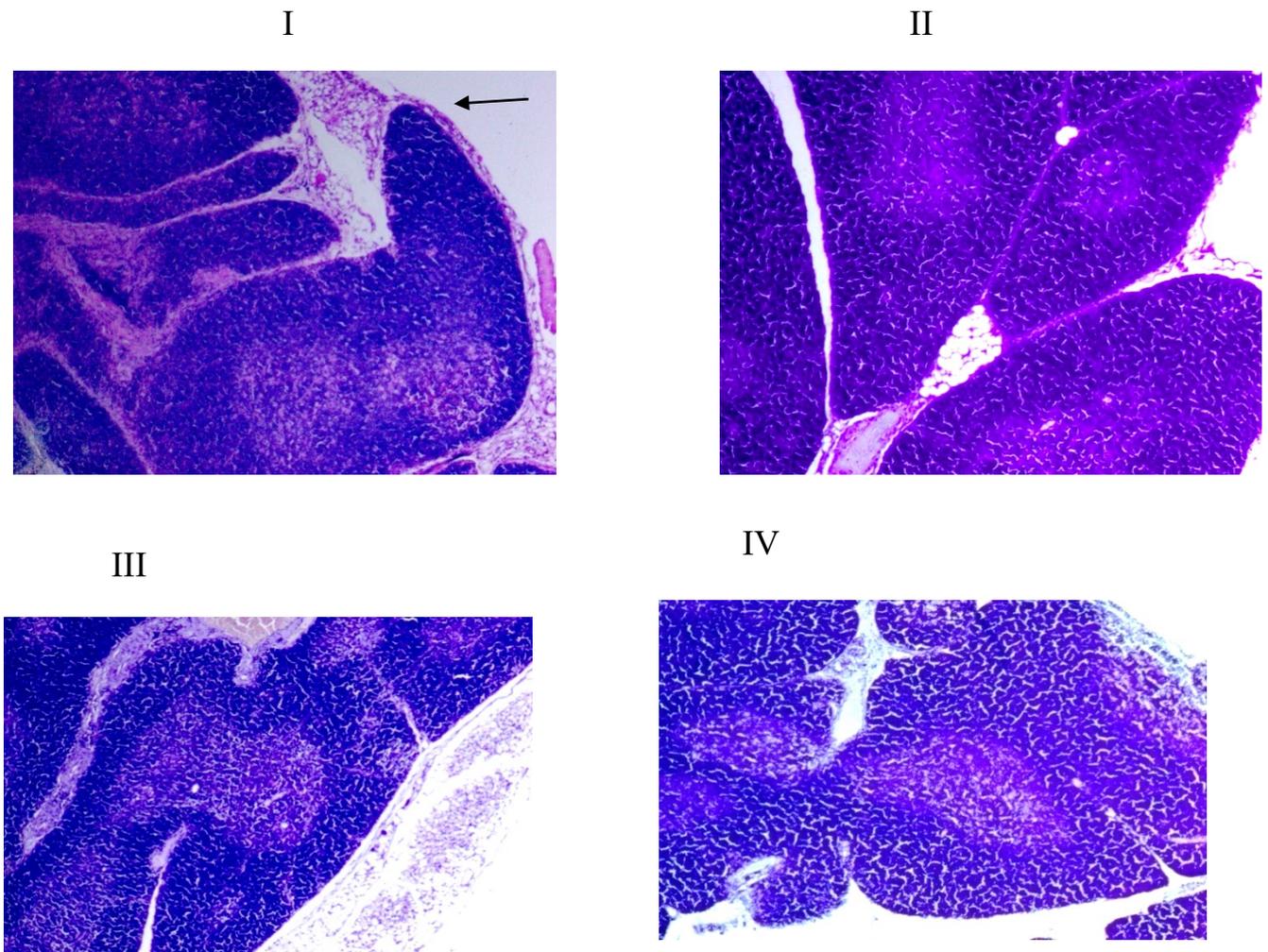


Рисунок 33 - Гистологическая структура тимуса стрессированных крыс,

получавших физиологический раствор (I), феназепам (II), мелатонин (III) и их комбинацию (IV)

Окраска гематоксилин-эозин. $\times 100$.

Стрелкой обозначена область патологических изменений.

При микроскопическом исследовании надпочечников у интактных крыс прослеживалось нормальное гистологическое строение эндокринных желез. Кортиковое вещество представлено тремя зонами. В клубочковой зоне клетки с равномерно окрашенной цитоплазмой и формируют арки или «клубочки». В пучковой зоне они располагаются радиально ориентированные тяжи или «пучки», разделённые синусоидными капиллярами. Внутренняя зона – сетчатая, прилежащая к мозговому веществу, представлена анастомозирующими тяжами, идущими в разных направлениях и образующими «сеть». В мозговом веществе просматривается полигональные клетки с крупным ядром и мелкозернистой цитоплазмой, между которыми располагаются кровеносные капилляры. При морфометрии в среднем ширина коркового слоя надпочечников у интактных крыс составила $1243,85 \pm 100$ рх.

При исследовании надпочечников у контрольных животных обнаружено значимое увеличение ширины коркового слоя (в среднем $2001,59 \pm 120$ рх, $P < 0,01$) (таблица 8). При этом чётко прослеживалась делипоидизация клубочкового слоя коры, сморщенные клетки с обеднённой, скудной цитоплазмой и гиперхромными ядрами. Явления делипоидизации клеток клубочкового слоя коры описаны во многих морфологических исследованиях, как проявления стресса или шока различного генеза (травматического, гиповолемического и др.). Следовательно, хронический стресс вызвал не только острые дистрофические изменения, но и гиперпластические процессы в коре надпочечников.

Феназепам несколько ограничивал гиперплазию коры надпочечников преимущественно за счет пучковой зоны ($1780,0 \pm 90$ рх). Размеры зоны делипоидизации клубочкового слоя коры не менялись. Мелатонин также ослаблял степень гиперплазии коркового вещества надпочечников стрессированных крыс. Этот сдвиг

носил характер недостоверной тенденции ($1751,19 \pm 125$ px), но сопровождался отчетливым уменьшением явлений делипоидизации клеток клубочкового слоя (таблица 8).

При использовании комбинации мелатонина и феназепам обнаружены неоднородные гистологические изменения в надпочечниках. Гиперплазия коры имела неравномерный характер: прослеживались участки истончения коры, которые чередовались с гиперплазированными зернами. В среднем ширина коры надпочечников составила $1500,00 \pm 90$ px, что было достоверно меньше, чем в контрольной группе ($P < 0,05$). При этом явлений делипоидизации клубочкового слоя не выявлено.

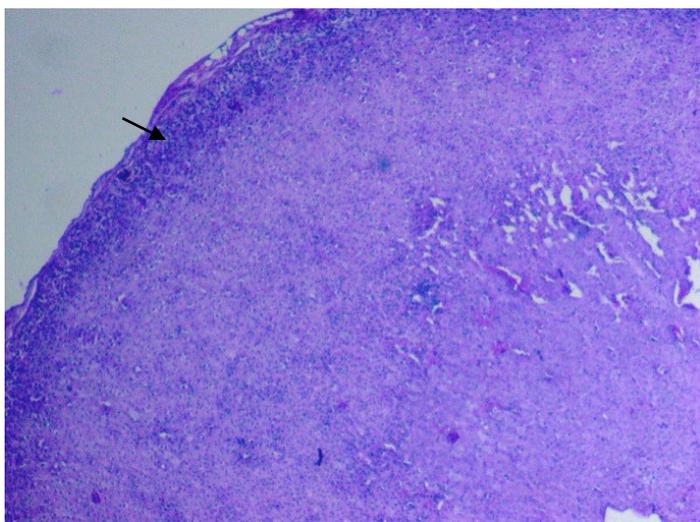
Таблица 8. Морфометрические показатели и патоморфологические изменения коры надпочечников стрессированных крыс

Группа	Морфометрические показатели				Патоморфологические изменения
	Общая ширина коры надпочечников	Ширина клубочкового слоя	Ширина пучкового слоя	Ширина сетчатого слоя	
Интактные	$1243,85 \pm 100$	$215,7 \pm 24$	$896,3 \pm 34$	$131,9 \pm 9$	отсутствуют
Стресс+физ. раствор (контроль)	$2001,6 \pm 120^{**}$	$302,7 \pm 19^{**}$	$1380,5 \pm 32^{**}$	$318,5 \pm 28$	гиперплазия коры, делипоидизации клубочкового слоя
Стресс+феназепам	$1780,0 \pm 90$	$320,0 \pm 20$	$1190,3 \pm 70$	$230,4 \pm 12$	гиперплазия коры; умеренная делипоидизация клубочкового слоя.
Стресс+мелатонин	$1751,2 \pm 125$	$291,0 \pm 20$	$1218,7 \pm 96$	$241,5 \pm 21$	гиперплазия коры; явления делипоидизации клубочкового слоя отсутствуют
Стресс+феназепам+мелатонин	$1500,0 \pm 90^+$	$120,0 \pm 8^+$	$1042,0 \pm 100$	$360,0 \pm 10^+$	неравномерная гиперплазия коры; явления делипоидизации клубочкового слоя отсутствуют

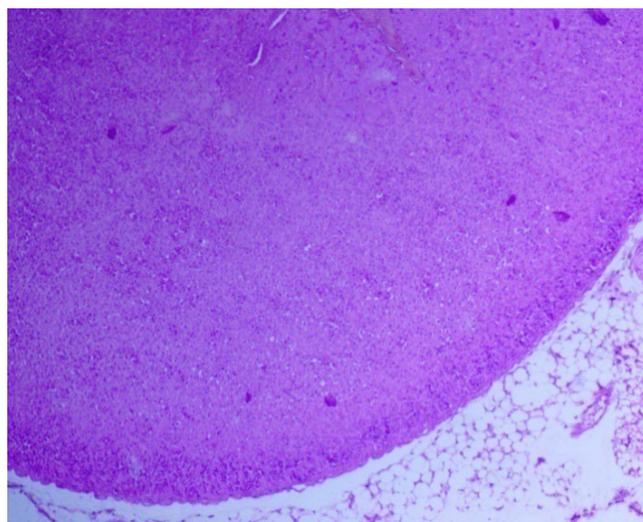
Примечание: морфометрические значения даны в пикселях (px).

** - статистически достоверные отличия при сравнении стрессированных и интактных крыс ($P < 0,01$).+ - соотношение данных животных, получавших препараты и контрольной группы.

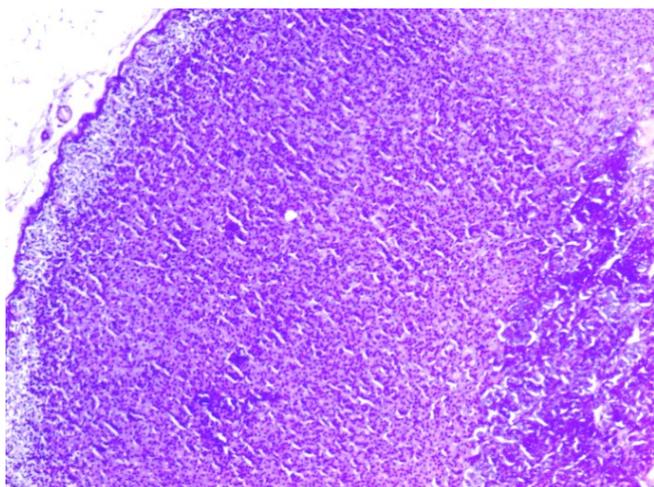
I



II



III



IV

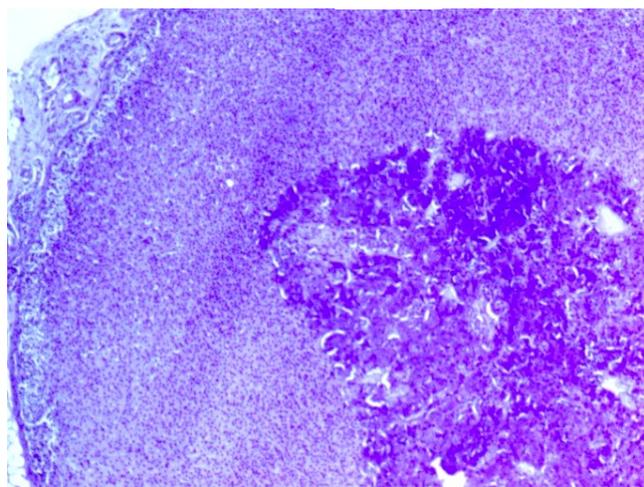


Рисунок 34 - Гистологическая структура надпочечников стрессированных крыс, получавших физиологический раствор (I), феназепам (II), мелатонин (III) и их комбинацию (IV).

Окраска гематоксилин - эозин. x100.

Стрелкой обозначена область гиперплазии коры.

Язвообразование в желудке.

Размеры язвенного поражения слизистой желудка существенно отличались у отдельных особей. У большинства крыс были обнаружены 2-3 язвы общей пло-

щадью 3-5 мм². У других животных язвенные дефекты были более выраженными. При этом у двух особей повреждения слизистой оболочки отсутствовали.

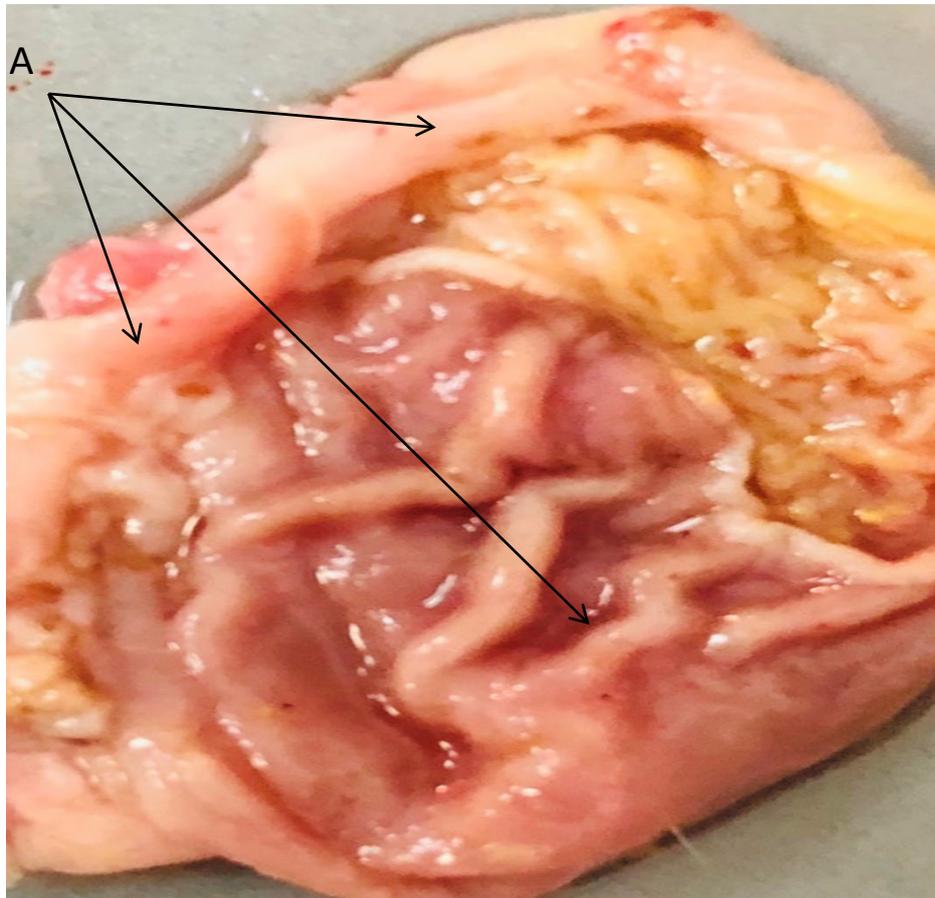


Рисунок 35 - Желудок стрессированной крысы

А – язвенные поражения слизистой.

Феназепам ограничивал размеры язвенного поражения слизистой желудка, но этот эффект не находился на уровне недостоверной тенденции. Достоверные сдвиги вызывал мелатонин, а наибольшее протективное действие отмечено в случае совместного введения веществ (рисунок 36).

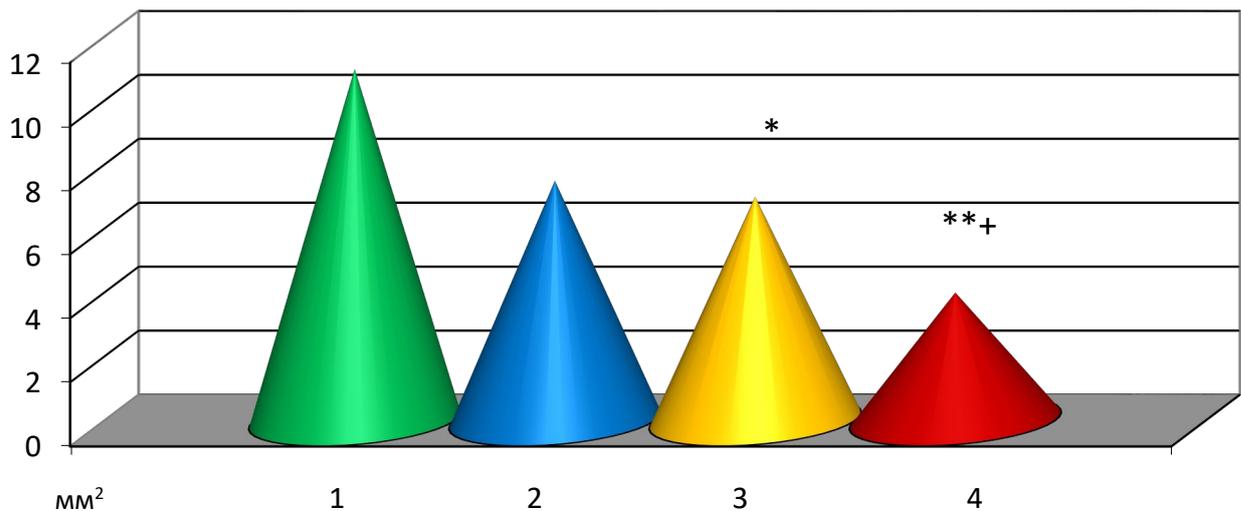


Рисунок 36 - Влияние феназепам (2), мелатонина (3) и их комбинации (4) на размер язв желудка стрессированных крыс

1 - данные контрольной группы (1).

Обозначения как на рис. 32.

Таким образом, согласно полученным данным, феназепам и мелатонин ослабляют морфологические нарушения, вызванные хроническим стрессированием крыс. При этом наибольшее уменьшение процессов инволюции тимуса, гиперплазии надпочечников и язвообразования в желудке отмечено при комбинированном применении препаратов.

5.2. Состояние антиоксидантной системы мозга

Согласно полученным данным, хроническое стрессирование приводило к повышению уровня каталазы в ткани мозга крыс контрольной группы по сравнению с интактными животными ($710,0 \pm 22,0$ и $297,0 \pm 12,0$ нг/мл; $P < 0,01$). Содержание ГП и СОД при этом, напротив, уменьшалось (с $5,5 \pm 0,3$ до $2,0 \pm 0,2$ и с $282,0 \pm 24,0$ до $87,0 \pm 11,0$ нг/мл; $P < 0,05$ соответственно). Феназепам ограничивал индуцированные стрессом изменения количества антиоксидантных ферментов. В

частности, уровень каталазы оказывался более низким, чем у особей контрольной группы ($520,0 \pm 11,0$; $P < 0,01$). В значительно меньшей степени также уменьшались показатели ГП и СОД ($3,9 \pm 0,3$ и $200,0 \pm 11,0$ нг/мл; $P < 0,01$). Мелатонин оказывал сходное действие, ослабляя все вызванные стрессом сдвиги. После его введения содержание каталазы в мозговой ткани стрессированных крыс составило $510 \pm 17,0$ нг/мл, ГП – $4,0 \pm 0,25$ нг/мл и СОД – $200,0 \pm 14,0$ нг/мл ($P < 0,01$ при сравнении с данными контрольной группы). Важно, что сочетанном введении веществ их антиоксидантное действие, судя по нашим данным, заметно усиливались. Так, уровень каталазы после стресса возрастал в гораздо меньшей степени, чем при изолированном применении препаратов ($360,0 \pm 12,0$ нг/мл, $P < 0,05$). Точно также не столь значительно снижалось содержание ГП и СОД ($5,0 \pm 0,2$ нг/мл и $230,0 \pm 11,0$ соответственно, $P < 0,05$) [25].

Таблица 9 - Влияние психотропных препаратов, мелатонина и их комбинации на уровень антиоксидантных ферментов в ткани переднего мозга крыс (нг/мл)

Группы животных	Каталаза	Глутатионпероксидаза	Супероксиддисмутаза
Интактные	$297,0 \pm 12,0$	$5,5 \pm 0,3$	$282,0 \pm 24,0$
Стресс+физ. р-р	$710,0 \pm 22,0$	$2,0 \pm 0,2$	$87,0 \pm 11,0$
Стресс+феназепам	$520,0 \pm 11,0^*$ *	$3,9 \pm 0,3^{**}$	$200,0 \pm 11,0^{**}$
Стресс+мелатонин	$510 \pm 17,0^*$	$4,0 \pm 0,25^{**}$	$200,0 \pm 14,0^{**}$
Стресс+феназепам +мелатонин	$360,0 \pm 12,0^*$ *+	$5,0 \pm 0,2^{**+}$	$230,0 \pm 11,0^{*+}$
Стресс+флуоксетин	$490,0 \pm 16,0^*$ *	$3,9 \pm 0,3^{**}$	$195,0 \pm 12,0^{**}$
Стресс+флуоксетин +мелатонин	$410,0 \pm 14,5^*$ *+	$4,5 \pm 0,2^{**+}$	$223,0 \pm 13,0^{**}$

Примечание: * - статистические различия при сравнении с контрольной группой (физ. р-р); ** - $P < 0,01$. + - достоверные сдвиги по отношению к результатам изолированного введения веществ.

Сходные результаты получены и в опытах с животными, получавшими флуоксетин и его комбинацию с мелатонином. Антидепрессант ограничивал про-

оксидантное действие хронического стресса, и это его действие потенцировалось мелатонином (таблица 9).

Заключение. Согласно полученным данным, мелатонин ослабляет морфологические и биохимические нарушения, вызванные хроническим стрессом. По выраженности своего действия гормон не уступает традиционным психотропным препаратам – анксиолитику феназепаму и антидепрессанту флуоксетину и заметно усиливает их эффекты при совместном применении.

ГЛАВА 6. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Согласно полученным нами результатам, эпифизарный гормон мелатонин, обладая собственной психотропной активностью, заметно усиливает специфическое действие анксиолитических и антидепрессивных препаратов. Это свойство мелатонина носит универсальный характер и проявляется как при использовании традиционных моделей изучения эмоционального состояния животных, так и оценке хронотропной активности веществ.

В частности, в наших опытах мелатонин в тестах открытого поля, темной светлой камеры, приподнятого крестообразного лабиринта и конфликтной ситуации, достоверно снижая тревожность крыс, потенцировал специфическое действие традиционных анксиолитиков – феназепама и тофизопама. Эти результаты подтверждаются немногими численными данными других исследователей, согласно которым комбинированное применение эталонного анксиолитика диазепама и мелатонина более выражено уменьшало выраженность тревожных реакций у крыс в условиях конфликтной ситуации и крестообразном лабиринте, чем изолированное введение веществ. Кроме того, подобное сочетание препаратов отчетливо повышало порог болевой реакции у мышей [156, 190]. Клинические наблюдения показали, что мидазолам (15 мг), назначенный больным перед холецистэктомией, не влиял на их эмоциональное состояние, но в комбинации с мелатонином заметно ослаблял тревожность [40]. Похожие результаты обнаружены и при оценке тревожного статуса 80 больных перед хирургическими операциями. Комбинация алпразолама (0,5 мг) и эпифизарного гормона (3 мг) превышала по выраженности анксиолитического действия результаты отдельного использования препаратов [203].

Имипрамин и мелатонин в высоких дозах (40 мг/кг и 5 мг/кг соответственно) оказывали более выраженный эффект, чем отдельное применение веществ, в тесте принудительного плавания у мышей, сокращая время неподвижного пребывания животных в резервуаре с водой [93]. Точно такие же факты на этой пове-

денческой модели были получены в случае сочетания гормона и циталопрама [211]. Интересно, что если при определенных экспериментальных условиях бупирон и мелатонин по отдельности не проявляли антидепрессивную активность, то их сочетанное использование приводило к развитию отчетливого эффекта [94]. При изучении поведения рыб обнаружено, что комбинированное применение мелатонина и антидепрессанта венлафаксина в гораздо большей степени ослабляло угнетающее действие резерпина, чем изолированное использование этих веществ [252].

Согласно клиническим наблюдениям, мелатонинернический антидепрессант агомелатин (25 мг/сутки в течение 3 недель) в сочетании с эсциталопрамом существенно ограничивал проявления обсессивно-компульсивных расстройств, не вызывая при этом никаких побочных эффектов [84]. Это же вещество, но в комбинации с венлафаксином, заметно ослабляло выраженность навязчивых симптомов и суицидальных мыслей у больных [235]. Сочетание агомелатина с бупропионом или моклобемидом оказалось эффективным даже при лечении устойчивых к традиционной терапии форм психической депрессии, заметно превосходя по эффективности результаты изолированного использования препаратов [205, 246, 248].

У женщин, находящихся в постменопаузе, часто наблюдается развитие психической депрессии в сочетании с нарушением сна и ожирением. Учитывая большое количество осложнений, вызываемых заместительной гормональной терапией, для коррекции указанных расстройств часто используются психотропные препараты. В частности, показано, что применение антидепрессанта флуоксетина и мелатонина приводило к снижению тревожности, оцениваемой по шкале Гамильтона, депрессивных проявлений (шкала Бека), улучшению качества ночного сна (ISI) и снижению массы тела. Что особенно важно, терапевтический эффект заметно усиливался при совместном введении препаратов [75].

Имеются наблюдения, согласно которым комбинация вальдоксана (агомелатина) и антидепрессанта amitриптилина у больных с резистентной соматизированной депрессией и циркадианной дизритмией приводила к более выраженной

редукции негативных симптомов и достижению ремиссии (ниже 7 баллов по шкале HAM-D), чем изолированное применение веществ [36].

Как известно, ключевым механизмом специфического действия бензодиазепиновых анксиолитиков является усиление тормозной ГАМК-ергической передачи за счет первичного взаимодействия с ГАМК-бензодиазепиновыми рецепторами. Связываясь с альфа-субъединицами ГАМК_A-рецептора, препараты аллостерически повышают сродство (аффинитет) бета-субъединиц к ГАМК. В результате происходят конформационные сдвиги в мембране клетки, и открываются хлорные каналы. Повышенное проникновение ионов хлора внутрь клетки приводит к гиперполяризации постсинаптической мембраны и угнетению нейрональной активности [256, 71, 72, 226]. Стимуляция связывания ГАМК со специфическими рецепторами фармакологически достаточно обоснована, поскольку антагонисты бензодиазепиновых рецепторов (флумазенил) и инвертные агонисты (бетакарболины) конкурентным образом ослабляют фармакологический ответ на эти вещества [63, 210].

Между тем, из многих нейромедиаторных систем мозга ГАМК-ергические нейроны, очевидно, являются наиболее вероятными мишенями для действия эпифизарного мелатонина. И именно это объясняет широкий спектр его психотропной активности с выраженным анксиолитическим компонентом. Мелатониновый контроль ГАМК-ергической системы, очевидно, обусловлен возможностью модифицировать свойства тормозных механизмов воздействием на разные типы мембранных или ядерных рецепторов. В результате возрастает чувствительность ГАМК-бензодиазепиновых комплексов, прямо увеличивается проницаемость нейрональных мембран для ионов хлора и развивается гиперполяризация. Кроме того, проникая внутрь нейронов, мелатонин в цитозоле способен трансформироваться в метоксикинуренамин, который обеспечивает дополнительное раскрытие хлорных каналов [140, 206, 277].

Существенный вклад в развитие анксиолитического и антидепрессивного эффектов вносят серотонинергические механизмы. Хотя их модуляция является ключевым элементом действия азапириновых анксиолитиков (буспирона), бензо-

дiazепиновые производные также способны влиять на обмен серотонина в мозге [49]. Фармакологическое вмешательство в функцию серотонинергических синапсов сегодня считается одним из ведущих механизмов специфического действия современных антидепрессивных препаратов. Наряду с флуоксетином и флувоксамином, являющимися селективными блокаторами обратного захвата серотонина, усиливать функцию этого медиатора могут и другие антидепрессанты [103, 155].

Наряду с этим, мелатонин демонстрирует отчетливые серотонинмиметические свойства. Гормон может влиять на обмен и выброс серотонина из рафогугальных аксональных терминалей, следующих от ядер шва. Обнаружено, что мелатонин устраняет нарушения в обороте серотонина в разных мозговых образованиях, возникающие после эпифизэктомии. Оказывая угнетающее влияние на активность триптофан-пиролазы в печени, вещество также модулирует превращение медиатора во всём организме [128,136].

Известно, что ослабление дофаминергической передачи определяет развитие некоторых форм аффективных нарушений, в том числе психической депрессии [52, 112]. Агонисты дофаминовых рецепторов D2/3 демонстрируют достаточно высокую эффективность в устранении депрессивных проявлений в сочетании с улучшением когнитивных функций у этих больных [41]. Важно, что селективные блокаторы обратного захвата серотонина (флуоксетин), могут снижать активность дофаминергической системы [56]. На основании этих фактов, было выдвинуто предположение, что эффективность агонистов дофамина в лечении основных депрессивных расстройств обусловлена влиянием на оборот дофамина в вентральном стриатуме [264]. Возможно, происхождение психической депрессии может быть связано с повышением функциональной активности стриатума, являющегося основным источником дофамина в мозге. Об этом свидетельствуют клинические и экспериментальные данные, согласно которым у людей, страдающих паркинсонизмом (признанный клинический индикатор гиперактивности полосатого тела), и у животных с длительной электростимуляцией структуры формируются типичные депрессивные симптомы [5, 220]. Обнаружено, что мелатонин от-

четливо ослабляло посредованную гомоцистеином дофаминергическую нейротоксичность в черной субстанции и стриатуме крыс. Введение гормона (10, 20 и 30 мг/кг, внутривенно) уменьшало истощение дофаминергических терминалей в указанных структурах и предупреждало развитие поведенческих нарушений у крыс [195].

Кроме того, мелатонин, посредством воздействия на специфические рецепторы 1-го и 2-го типов, ингибировал обратный захват дофамина в стриатуме мышей, повышая его концентрацию в эндоплазматическом ретикулуме [53]. Аналог мелатонина 5-метоксикарбониламино-N-ацетилтриптамин (5-MCA-NAT) повышал уровень эндогенного дофамина в сетчатке у куриных эмбрионов и в дальнейшем у цыплят, определяемый методом иммуноферментного анализа. Этот эффект нивелировался неселективным антагонистом мелатониновых рецепторов лундолом, что подтверждает специфичность указанных сдвигов [225].

Помимо упомянутых нейромедиаторных систем в генезе эмоциональных расстройств и действии анксиолитиков и антидепрессантов могут быть заинтересованы и норадренергические механизмы [47]. В частности, электростимуляция норадренергических нейронов голубого пятна провоцирует у экспериментальных животных появление тревожных реакций страха, нарушение сна с сопутствующими вегетативными нарушениями. Напротив, электролитическое повреждение этой структуры приводит к развитию противотревожного эффекта [5]. Анксиогенная роль норадренергических механизмов подтверждается также фармакологическими данными. Так, у антагониста тормозных пресинаптических альфа₂-адренорецепторов йохимбинана различных экспериментальных моделях у животных показана способность оказывать анксиогенное действие [175, 272]. С другой стороны, у бета-адреноблокаторов описаны отчетливые противотревожные свойства [101]. К тому же появились сведения о способности бензодиазепиновых анксиолитиков (диазепама, лоразепама и мидазолама) модулировать функцию альфа-адренорецепторов посредством влияния на фосфодиэстеразу-4 [265]. А у оланзепина показаны прямой альфа₁-адреноблокирующий эффект [176].

В последнее время все чаще приводятся аргументы в пользу усиления функции норадренергических механизмов и при развитии психической депрессии [105, 207]. В частности, в ряде клинических случаев отмечается повышение содержания норадреналина в ликворе больных. Оценка соотношения уровня экскретируемых метаболитов вещества между собой также обнаруживала связь между развитием депрессии и усилением выброса норадреналина из окончаний симпатических нейронов. При этом хроническое введение антидепрессантов, обладающих разным механизмом клеточного действия, показало, что они сходным образом ограничивают норадренергическую передачу [5].

Важно, что мелатонин, проявляющий анксиолитические и антидепрессивные свойства, также способен связываться с адренергическими рецепторами (альфа-1 и альфа-2) [234]. Кроме того, гормон может прямо блокировать бета-адренорецепторы, ограничивая их ответ на изопротеренол [43].

Согласно полученным нами результатам, мелатонин и бензодиазепиновые анксиолитики демонстрируют сходные хронотропные свойства, сопровождающие развитие противотревожного эффекта. Наблюдались синхронизация циркадианного ритма подвижности крыс и адаптивная перестройка временной динамики принудительного плавания. Наиболее отчетливо ритмстабилизирующее действие веществ проявлялось у стрессированных животных, причем максимальный эффект отмечен при совместном введении препаратов. Очевидно, что усиление гормоном хронотропных свойств анксиолитиков является важным компонентом его действия.

В хронобиологии общепризнанно положение, в соответствии с которым любое неблагоприятное воздействие на организм приводит к обязательной перестройке нормальных ритмических процессов. И это положение в полной мере применимо к стрессу и провоцируемому им невротическому состоянию [12, 254]. Степень и устойчивость во времени возникающей дизритмии зависит от многих переменных факторов (характер и происхождение стрессора, его сила, продолжительность и пр.). Как правило, достаточно сильное и к тому же повторное стрессирование неизбежно дезорганизует основной суточный периодизм, вызывая фа-

зовое рассогласование колебательных процессов и/или изменение амплитудно-частотных характеристик ритмики. Так, в соответствии с обнаруженными нами фактами, иммобилизационно-болевым стресс вызывал у крыс расщепление кривой суточной локомоции на ультрадианные составляющие или даже инверсию ритмики. Отличалась нестабильность положения акрофазы с ее смещением на более ранние ночные часы, а также, согласно спектральному анализу, усиление мощности высоко- и низкочастотных флюктуаций в структуре ритма у стрессированных животных было показано и в других экспериментах [11].

У людей социальные причины, хронический стресс (болевым или иммобилизационный), сменные условия труда также расстраивают циклы сон-бодрствование, проявлением чего служит бессонница, неизменно аккомпанирующая невротическому статусу [127, 236]. У больных происходит также смещение амплитуды циркадианных колебаний величины артериального давления и сердечного ритма, возникают отклонения в нормальной динамике секреции и моторики желудочно-кишечного тракта, эндокринные расстройства и т.д. [27, 86].

В числе других тяжелых психических заболеваний депрессия, пожалуй, в наибольшей степени демонстрирует, самую тесную связь с хронобиологическими нарушениями. Сопровождающая её дизритмия и расстройства большинства околосуточных физиологических функций описаны весьма детально [48, 65, 86, 118, 120, 143, 166, 167, 188, 189, 202, 267]. В первую очередь необходимо отметить наибольшую выраженность депрессивных проявлений в утренние часы сразу после пробуждения с постепенным улучшением психоэмоционального состояния к вечеру, в ряде случаев даже до полного исчезновения негативных симптомов. Этим изменениям обычно сопутствуют нарушения в нормальной ритмической структуре вегетативных и эндокринных показателей. У многих депрессивных больных показана, например, дизритмия в экскреции электролитов, частоты сердечного ритма, температуры тела, и т.п. Акрофазы этих показателей обычно смещены на несколько часов вперед по сравнению со здоровыми людьми. Важно, что нарушения суточного периодизма могут затрагивать и обмен нейромедиаторов, участие которых в развитии депрессивных расстройств достаточно очевидно.

Введение эталонного депрессогена резерпина экспериментальным животным также провоцирует формирование грубого десинхроноза со снижением амплитуды суточного ритма двигательной активности. При этом его акрофазы смещалась на вечерние часы [17].

Изложенные факты легко убеждают в том, с хронобиологических позиций у невроза и психической депрессии существуют общие черты. В обоих случаях отмечается явная с дизритмия, в первую очередь в виде нарушения суточного периодизма. К десинхронозу часто приводят похожие причины, например, действие какого-либо стрессорного фактора. Однако следует подчеркнуть, что невроз и депрессию при всем сходстве сопутствующих им дизритмических проявлений существенно отличают масштабы и устойчивость поломки циркадианных биоритмов.

Специфичность указанных фактов подтверждают наши опыты с эпифизэктомированными животными. Удаление железы оказывает отчетливое анксиогенное и продепрессивное действие, одновременно вызывая нарушения нормальной ритмической структуры поведения крыс. Специфическое и хронотропное действие феназепама и флуоксетина у этих особей заметно ослабевают. Введение мелатонина частично нивелирует последствия эпифизэктомии, но способность гормона усиливать эффекты психотропных препаратов заметно нивелируются.

Полученные нами результаты подтверждаются данными других авторов. В частности, экстирпация железы повышала депрессивные проявления в поведении хомяков в тесте принудительного плавания и угнетало их локомоторную активность в «открытом поле» [16, 268].

Исходя из изложенного выше, а также полученных нами результатов можно утверждать, что хронотропные свойства противотревожных и антидепрессивных средств являются не парафеноменом, а важной частью их специфического действия. В частности, способность анксиолитиков оказывать влияние на ритмику поведения подтверждают и данные других исследователей. Так, показано, что бензодиазепиновое производное триазолам смещал акрофазу суточной локомоции на поздние ночные, не влияя на спонтанное поведение крыс. При этом однократ-

ное введение флумазенила почти полностью нивелировало этот фазовый сдвиг [197].

Как обнаружено, использованные нами анксиолитические средства оказывают синхронизирующее влияние на динамику разных по длительности колебаний поведения: отсуточных (длиннопериодных) до более частых (секундного и минутного диапазонов). В частности, в ритмической структуре плавания крыс увеличивалось число более длительных циклов. Другими словами, у препаратов показана способность к затягиванию колебательного процесса, в результате чего стратегия поведения животных становилась более рациональной, что необходимо в ситуации безысходности.

Согласно полученным нами данным, действие анксиолитических средств отчетливо усиливается в условиях дизритмии, вызванной повторным стрессированием крыс. Синхронизирующее влияние исследованных препаратов на суточный ритм подвижности, дезорганизованный стрессом, оказывалось гораздо более отчетливым. Введение феназепама и тофизопама повышало амплитуду ритма циркадианной локомоции, вследствие достоверного снижения числа дневных и повышения количество ночных переходов в жилой клетке. По данным индивидуального анализа, чем существеннее деформировался рисунок ритма, тем заметнее проявлялось антистрессорное действие анксиолитиков. Ритмстабилизирующие свойства анксиолитических средств показаны и в опытах других исследователей. В частности, обнаружена способность тофизопама отчасти нивелировать нарушения ритма суточной подвижности у крыс, вызванную повторными инъекциями физиологического раствора [11]. Более того, после хронического введения диазепама показано повышение амплитуды ритма двигательной активности у крыс и ослабление дизритмии, вызванной нарушением режима освещённости [66, 88].

Точно также антидепрессивные средства, принадлежащие к разным фармакологическим группам, могут затягивать период различных околосуточных колебаний (подвижности, потребления пищи и воды, памяти) у интактных животных и оказывать ритмстабилизирующее действие при депрессивных состояниях [119, 131,150]. Синхронизация суточного ритма покой-активность обнаруживается не

только у дневных (хомячки), но и у ночных (крысы) животных [152, 216]. Наиболее отчетливые сдвиги в виде смещения акрофазы подвижности животных на ранние утренние часы наблюдаются после применения клоргиллина (ингибитор МАО типа А), на эффект же гетероциклических соединений (имипрамина или кломипрамина) существенно влияет использованная доза препаратов [266, 16].

Вызываемая антидепрессантами реорганизация циркадианного периодизма, естественно, не может не затрагивать колебательные процессы и меньшего периода. Так, по нашим данным, имипрамин и флуоксетин демонстрируют хронотропную активность, способствуя синхронизации циркадианной динамики двигательной активности животных и адаптивной перестройке временной динамики плавания со снижением показателя депрессивности. Согласно результатам других исследований, у крыс под влиянием имипрамина, ниаламида или амитриптилина на смену высокочастотным элементам плавательного поведения приходят затянутые во времени, широкоамплитудные эпизоды. При этом снижается величина интегративного показателя – индекса депрессивности [16].

Следовательно, в целом можно констатировать сходство хронобиологических сдвигов, вызываемых антидепрессантами и противотревожными средствами. Основным объединяющим элементом фармакодинамики и антидепрессантов, и анксиолитиков является в равной мере выраженная способность ликвидировать хронобиологический дефект, представляющий собой не просто сопутствующий феномен, а патогенетическое звено обоих заболеваний.

Важно, что мелатонин, наряду с противотревожной активностью, также демонстрировал отчетливые ритмстабилизирующие свойства, в ряде опытов превосходя по их выраженности традиционные анксиолитики. Последнее обстоятельство, впрочем, представляется вполне закономерным, поскольку гормон является естественным хронобиотиком, и его синхронизирующая активность подтверждена многочисленными экспериментальными исследованиями и клиническими наблюдениями [8, 242, 257]. С учетом того, что традиционные анксиолитические (феназепам, тофизопам и др.) и антидепрессивные (имипрамин, флуоксетин) препараты обладают сходной с мелатонином хронотропной активностью, не

вызывает сомнений положение о значении их ритморганизующего действия для обеспечения противотревожного эффекта.

Как уже отмечалось, лекарственные средства могут вызывать различные изменения ритмических процессов. В реализацию хронофармакологических эффектов могут вовлекаться как осцилляторные свойства клеток-мишеней, так и состояние центральных аппаратов управления биоритмами. Исходя из этого, определяя механизм хронотропного действия анксиолитиков, антидепрессантов и мелатонина, а также точки их взаимодействия в первую очередь необходимо отметить возможное влияние на функцию ведущего пейсмекера ритмических процессов в организме млекопитающих – СХЯ [258].

Имеющиеся данные о функциональной организации и нейрохимии СХЯ уже априори предполагают в них важную мишень для реализации анксиолитического эффекта. В частности, в нейронах ядер показана высокая плотность ГАМК-бензодиазепиновых рецепторных комплексов, а также серотониновых рецепторов типа 1A [45, 85, 153, 170, 174, 183, 184, 185]. Имеются экспериментально полученные факты, свидетельствующие о бензодиазепиновых анксиолитиков влиять на активность ГАМК-ергической системы непосредственно в СХЯ. Оценка их активности (*in vivo* и *in vitro*) на срезах мозга лабораторных животных, демонстрировала угнетение спонтанной ритмики нейронов после на ионофоретической аппликации флуразепама и хлордiazепоксида. Такой же эффект вызывал и естественный медиатор ГАМК, чей эффект ограничивался бикикуллином. Следствием активации ГАМК-бензодиазепиновых рецепторных комплексов в самих ядрах, вероятно, является способность анксиолитиков смещать фазу суточной подвижности и модулировать интенсивность притока зрительной импульсации к этим структурам [2].

Серотонинергические проекции из ствола мозга также обеспечивают контроль деятельности пейсмекерного механизма. Он осуществляется посредством нервных путей, идущих от дорсального либо медианного ядер шва. Селективный нейротоксин серотонина 5,7-гидрокситриптамиин, вводимый непосредственно в СХЯ, ослаблял хронобиологический эффект триазолама, тогда как избирательный

агонист серотониновых рецепторов типа 1A 8-ОН-ДПАТ, напротив, имитировал действие препарата [81].

Таким образом, за счет взаимодействия с ГАМК-бензодиазепиновыми и серотониновыми 1A рецепторами анксиолитики могут сдерживать клетки ведущего ритморганизующего механизма мозга. А это приводит к ограничению хода чрезмерно спешащих при невротизации биологических «часов» и потому к устранению дизритмии с вторичной нормализацией эмоционального состояния.

Сдерживание деятельности пейсмекерных нейронов СХЯ, вероятно, является важным слагаемым действия и антидепрессивных препаратов [244, 260]. О возможности веществ вмешиваться в работу СХЯ свидетельствует высокая плотность здесь мест специфического связывания имиπραмина, которые, как и ритмика самих нейронов, демонстрируют отчетливые суточные колебания. Максимальное связывание антидепрессанта с мембранами клеток ядер обнаружено в конце темновой, а минимальное – в конце световой фазы суточного цикла, что отчетливо коррелирует с колебаниями уровня ядерного серотонина [148].

Через эти рецепторы, очевидно, реализуется прямой тормозной эффект антидепрессивных препаратов [219, 249, 250, 262], поскольку ионофоретическая аппликация клоргиллина и имиπραмина в СХЯ или системное введение препаратов отчетливо урежают частоту разрядов большинства нейронов, а также клеток латерального коленчатого тела. Важно, что антидепрессивные средства потенцировали тормозной эффект на те же клеточные элементы серотонина. Ослабление возбудимости ядер по времени коррелировало с затягиванием ритма суточной подвижности животных, тогда как введение антидепрессантов в соседние участки гипоталамуса не вызывало подобных эффектов [142, 165].

Свидетельством прямого участия СХЯ в формировании антидепрессивного эффекта может служить и тот факт, что частичное электролитическое повреждение ядер и инъекции имиπραмина вызывают сходную перестройку ритма суточной локомоции крыс в виде смещения его акрофазы на несколько часов. Если оба эти воздействия затрудняли такую перестройку, то введение депрессогенного средства резерпина и удаление эпифиза, т.е. продепрессивные вмешательства,

ускоряли данный процесс. Наконец, о сходстве хронотропного действия антидепрессивных веществ с ограничением функции ведущего пейсмекера свидетельствует изучение временной динамики принудительного плавания крыс. В обоих случаях отмечалось усиление активности животных и снижение ритмологического индекса депрессивности [16].

Важно, что СХЯ являются, очевидно, ведущей мишенью для реализации хронотропных свойств мелатонина [8, 89, 129, 198, 199]. В частности, на мембранах нейронов этих структур обнаружена, пожалуй, самая высокая плотность специфических рецепторов, количество и аффинность которых в соответствии с деятельностью самой железы демонстрируют выраженный циркадианный ритм [200]. Использование мелатонина в физиологических дозах (1 нМ) провоцировало гиперполяризацию значительной части нейронов (63,7%) ядер, и этот эффект полностью блокировался антагонистом рецепторов гормона лизиндолом. Поскольку этот эффект сопровождался активизацией ГАМК-ергической передачи, очевидно, что угнетающее действие гормона на нейроны ядер обусловлено влиянием на обмен этого нейромедиатора [229].

Вероятность эпифизарного сдерживания активности СХЯ подтверждается электрофизиологическими данными, согласно которым аппликация гормона к изолированным нейронам СХЯ тормозит их разряды и угнетает синтез цАМФ. С другой стороны, в отсутствие контроля со стороны ядер (в случае их повреждения) за ритмическими процессами мелатонин тормозит смену временных режимов в другой. Проявлением этого, вероятно, является синхронизирующее влияние гормона на разные по продолжительности колебательные процессы в организме [8].

Таким образом, посредством модуляции функции пейсмекерных механизмов ядер анксиолитики, антидепрессанты и мелатонин могут вносить поправку в динамику разнопериодных ритмических процессов в организме человека и животных, особенно в случае её предварительной дезорганизации. В связи с этим, обнаруженное нами потенцирование эпифизарным гормоном хронотропного и специфического действия традиционных психотропных препаратов может, среди

прочего, может быть связано с изменением функциональной активности ведущего пейсмекера биологических ритмов – СХЯ.

Как показали полученные нами данные, которые согласуются с литературными сведениями, одним из патогенетических механизмов повреждения мозга на фоне эмоционального стресса может служить усиление окислительных процессов в нервной ткани. Окислительный (оксидативный, оксидантный) стресс – хорошо изученное явление, тесно связанное с основными биохимическими процессами в любых живых клетках и одновременно самым тесным образом заинтересованное в происхождении разных видов патологии у животных и человека [204, 117, 278]. Оксидантный стресс сопряжен с образованием свободнорадикальных (реактивных) форм кислорода, избыточное накопление которых ведет к гибели клеток из-за апоптоза и некроза. Этим процессам противодействует система антиоксидантной защиты, которая направлена в конечном счете на нейтрализацию свободных радикалов [149, 201]. Такой цели служат различные факторы эндогенного и экзогенного происхождения. К первым относятся естественные ферментные системы, представленные супероксиддисмутазой, каталазой, глутатиопероксидазой и глутатионредуктазой. Они в сочетании с некоторыми кофакторами (преимущественно в виде ионов металлов-цинка, меди либо металлоида селена) придают свободным радикалам нейтральную форму.

Наиболее разрушительное влияние эти процессы оказывают на деятельность головного мозга [69, 187, 243]. Это объясняется значительной потребностью церебральных клеток в кислороде и высоким содержанием липидов в мозговой ткани [224, 168, 275]. В силу указанных моментов усиление оксидантного стресса сопряжено с развитием не только нейродегенеративных видов заболеваний, подобных болезням Альцгеймера и Паркинсона [60, 191], но также, и с ранее считавшимися чисто функциональными формами психопатологии типа шизофрении и психической депрессии [73, 124, 158].

Эмоциональный стресс, в частности, выработка условной реакции пассивного избегания сопровождается усилением свободнорадикальных процессов в коре больших полушарий крыс. В соответствии с этой методикой переход животных

из светлого в более комфортный темный отсек экспериментального бокса сопровождается ударом тока, что, несомненно, является стрессорирующим воздействием. В результате содержание липоперекисей в гомогенатах мозга животных, достоверно возрастало. Одновременно значительно снижалась активность эндогенной антиоксидантной системы, которую оценивали по латентному периоду начала окислительных процессов [37]. Интересно, что выработка пищедобывательного условного рефлекса, которая не сопровождается какими-либо травмирующими воздействиями на животных, приводила к сходным, хотя и менее выраженным изменениям. Подобные биохимические сдвиги позволяют говорить о развитии окислительного стресса в ткани мозга даже при обычном обучении [19].

Другие исследователи в качестве модели острого эмоционального стресса использовали 60-минутную иммобилизацию крыс с одновременным нанесением электрокожного раздражения подпороговой силы. Ими обнаружено, что это воздействие не оказывало существенного влияния на содержание липоперекисей в гипоталамусе крыс, но достоверно увеличивало его уровень в миндалине и коре. При этом формирование отрицательного эмоционального состояния сопровождалось снижением активности антиоксидантного фермента – супероксиддисмутазы – во всех изученных мозговых структурах [33]. В других опытах крыс подвергали социальной изоляции (в индивидуальных клетках) в условиях полной темноты в течение 10-, 20- и 30 дней. В этих условиях обнаружено возрастание содержания малонового альдегида и оксида азота в плазме крови, миокарде и мозге животных. Причем выраженность указанных изменений отчетливо нарастает по мере увеличения срока стрессирования [139]. Согласно данным других исследователей, плавательный стресс на протяжении двух недель существенно ослаблял антиоксидантную защиту мозга. Обнаружено снижение уровня ключевых антиоксидантных ферментов – супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и каталазы – в гипоталамусе крыс [114].

Очевидно, что повреждение эмоциогенных структур мозга, обусловленное стресс-индуцированным усилением окислительных процессов, неизбежно приводит к развитию невротических и депрессивных расстройств. Данное положение

подтверждается многочисленными экспериментальными и клиническими данными [113, 100, 126, 141, 160, 169, 223, 231, 241]. В связи с этим кажутся вполне обоснованными выводы исследователей о том, что антиоксидантные свойства психотропных препаратов являются важной составной частью их специфического действия [55, 227, 233, 239, 218].

Действительно, введение грызунам антидепрессантов, обладающих разным механизмом клеточного действия, наряду с ослаблением эмоциональных расстройств, одновременно ограничивает и выраженность оксидантного стресса в структурах мозга [145, 236]. С другой стороны, экзогенные антиоксиданты в экспериментах *in vitro* и *in vivo*, а также в исследованиях на больных монополярной психической депрессией обнаруживают вполне определенную собственную антидепрессивную активность и способность потенцировать специфическое действие традиционных антидепрессивных средств. Подобные факты установлены при использовании пищевых полифенолов (ресвератрол, куркумин, кверцетин), а также омега-3 НЖК [80, 146].

Важно, что эпифизарный мелатонин в настоящее время признается одним из самых мощных эндогенных антиоксидантов, что является основой его универсальных терапевтических свойств [8]. Антиоксидантный эффект гормона обусловлен его способностью служить своеобразной «ловушкой» для свободных радикалов. По выраженности этого действия он превосходит даже такой известный антиоксидант как токоферол. В результате мелатонин заметно уменьшает процессы перекисного окисления липидов и препятствует повреждению агрессивными формами кислорода и азота мембран митохондрий. Примечательно, что этот эффект не связан с влиянием на специфических мелатониновых рецепторы. Одновременно гормон повышает активность глутатионпероксидазу, тем самым стимулируя образование естественного антиоксиданта глутатиона. Кроме того, вещество активирует ферменты супероксиддисмутазу и каталазу с одновременным угнетением прооксидантных ферментов. В итоге, баланс между антиоксидантными и прооксидантными системами смещается в пользу первых [15, 74, 164, 277].

Недавно мелатонин был предложен в качестве безопасного терапевтического средства в комплексной терапии COVID-19, причем его лечебное действие связывают с отчетливыми антиоксидантными и противовоспалительными свойствами [61].

В связи с изложенным выше, представляется вполне закономерной показанная нами способность эпифизарного гормона усиливать антиоксидантные свойства феназепама и флуоксетина. Согласно данным других исследователей, мелатонин (2,5 мг/кг) потенцирует специфическое и антиоксидантное действие буспирона (5 мг/кг). После 6-часовой иммобилизации у мышей уменьшалась масса тела, повышалась тревожность по данным поведенческих тестов, а также усиливались окислительные процессы в мозге. Комбинированное использование гормона и анксиолитика, по сравнению с их изолированным применением, в большей степени предупреждало потерю веса, ослабляло проявления тревоги в тестах темной светлой камеры и крестообразном лабиринте, а также интенсивность перекисного окисления липидов, судя по уровню нитритов и восстановлению активности глутатиона и каталазы [144].

Сочетанное использование мелатонина и анксиолитических веществ, отличающихся по своим фармакологическим свойствам, оказывается значимым ещё по одной причине. При использовании подобной комбинации к тому же ограничиваются нежелательные эффекты тех же бензодиазепиновых анксиолитиков. Добавление гормона к гомогенатам печени животных, длительно получавших диазепам, существенно ослабляло явления токсического повреждения ткани этого органа под влиянием этого бензодиазепинового производного. Известно, что анксиолитики этой группы часто используются для лечения бессонницы. Однако прекращение использования препаратов сопровождается развитием эмоциональных расстройств и ухудшением качества ночного сна у пожилых пациентов. Оказалось, что совместное применение мелатонина (2 мг/кг) заметно ослабляет указанные неблагоприятные эффекты бензодиазепинов [102].

Психическая депрессия часто ассоциируется с когнитивным дефицитом, который сохраняется даже после прекращения специфической терапии. Показано,

что при совместном применении буспирона (15 мг) и мелатонина (3 мг) эти нарушения проявляются в гораздо меньшей степени, чем при использовании одного антидепрессанта [253]. Обнаружено, что мелатонин (1 мг/кг) существенно нивелировал побочные эффекты, вызываемые флуоксетином (24 мг/кг). Гормон отчетливо ослаблял индуцированные препаратом лейкопению, тромбоцитопению и гипохромную и макроцитарную анемию, дегенеративные и воспалительные изменения в головном мозге, сердце, печени, легких, семенниках и почках у крыс-самцов [134]. В наших опытах с регистрацией показателей кардиоинтервалограммы мелатонин нивелировал ограничение вариативности сердечного ритма крыс, вызванное феназепамом и тофизопамом.

Следовательно, обобщая все полученные нами факты, можно утверждать, что мелатонин, демонстрируя отчетливые противотревожные и антидепрессивные свойства, способен заметно усиливать специфические эффекты анксиолитиков и антидепрессантов. В основе указанных свойств гормона среди прочего лежат его способность вмешиваться в нейромедиаторные процессы в мозге, ритмстабилизирующее действие и антиоксидантная активность.

ВЫВОДЫ

1. Мелатонин (0,1 мг/кг) на традиционно используемых для оценки анксиолитического эффекта моделях, оказывает противотревожное действие у крыс и повышает специфическую активность низких доз бензодиазепиновых анксиолитиков (феназепама (0,1 мг/кг) и тофизопама (10 мг/кг)).
2. Мелатонин и анксиолитические средства вызывают сходные сдвиги в ритмической организации поведения животных, которые усиливаются при совместном введении веществ. Наблюдаются синхронизация суточного ритма двигательной активности и адаптивные изменения во временной динамике принудительного плавания,
3. Феназепам и тофизопам ограничивают вариативность сердечного ритма у крыс, свидетельствующее о повышении активности симпатического отдела нервной системы. Это действие нивелируется при их комбинированном использовании с мелатонином.
4. Повторный иммобилизационно-болевого стресс вызывает дезорганизацию циркадианного ритма подвижности и уменьшение вариативности кардиоциклов, наряду с повышением тревожности крыс. Феназепам и мелатонин сходным образом ослабляют дизритмическое и анксиогенное влияние стресса, причем максимальный эффект отмечен при сочетанном применении препаратов.
5. Мелатонин усиливает специфическое и ритмстабилизирующее действие антидепрессантов (имипрамина (10 мг/кг) и флуоксетина (5 мг/кг)). При совместном введении веществ наблюдаются максимальное ослабление проявлений «резерпиновой депрессии» у крыс, синхронизация суточного ритма двигательной активности и перестройка временной динамики плавания со снижением показателя депрессивности.

6. Удаление эпифиза оказывает анксиогенное и продепрессивное действие, совпадающее с нарушением нормальной ритмической структуры поведения животных. Специфические и хронотропные эффекты феназепама и флуоксетина у этих особей резко ослабевают. Введение экзогенного мелатонина уменьшает последствия эпифизэктомии, но способность гормона усиливать действие анксиолитика и антидепрессантов значительной степени нивелируются.
7. Сочетанное введение мелатонина с изученными психотропными препаратами в большей степени ослабляет морфологические (инволюция тимуса, гиперплазия надпочечников, язвообразование в желудке) и биохимические (изменение активности антиоксидантных ферментов в переднем мозге) нарушения у стрессированных крыс, чем изолированное применение веществ.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АР – амплитуда ритма

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГП - глутатионпероксидаза

ИН – индекс напряжения

ИЦ – индекс централизации

КИГ – кардиоинтервалограмма

МАО – моноаминоксидаза

НЖК – ненасыщенные жирные кислоты

СОД - супероксиддисмутаза

СХЯ – супрахиазматические ядра

ЧСС – частота сердечных сокращений

ЦНС – центральная нервная система

ЭЭ - эпифизиэктомия

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арушанян, Э. Б. Антидепрессивные средства / Э. Б. Арушанян, К. Б. Ованесов // Ставрополь: Изд-во СтГМУ. - 2017. – 200 с.
2. Арушанян, Э. Б. Анксиолитические средства / Э. Б. Арушанян // Ставрополь: изд-во СтГМА. - 2001. - С. 240.
3. Арушанян, Э. Б. Адаптогены растительного происхождения / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Ставрополь. - 2017. – 148 с.
4. Арушанян, Э. Б. Гормон мозговой железы эпифиза мелатонин - универсальный естественный адаптоген / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Успехи физиологических наук. – 2012. – Т. 43. - № 3. – С. 82-100.
5. Арушанян, Э. Б. Иммуностропные свойства эпифизарного мелатонина / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2002. – Т. 65. - №5. – С. 73-80.
6. Арушанян, Э. Б. Мелатонин как возможный корректор ноотропной фармакологической активности / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2015. – Т.13 (прил.). – С.12-13.
7. Арушанян, Э. Б. Сравнительная оценка влияния удаления эпифиза и повреждения миндалина на поведенческие реакции крыс / Э. Б. Арушанян, Э. М. Чернышева // Журнал высшей нервной деятельности им И.П. Павлова. – 1996. - Т. 46. - № 4. – С. 762-8.
8. Арушанян, Э. Б. Это чудо природы – мелатонин / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Ставрополь: изд-во СтГМУ. - 2019. – 216 с.
9. Арушанян, Э. Б. Позитивные аспекты сочетанного влияния мелатонина и феназепам на поведенческую активность крыс / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер, О. В. Каминская [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2015. – Т. 10. - №1.

10. Арушанян, Э. Б. Участие эпифиза в антистрессорном действии адаптогенных средств / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Экспериментальная и клиническая фармакология – 2015. – Т. 78. - № 1. – С. 9-12.
11. Арушанян, Э. Б. Хронотипические особенности циркадианной локомоции у крыс / Э. Б. Арушанян., А. В. Попов // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2006. - №2. - С. 58-61.
12. Арушанян, Э. Б. Хронофармакология на рубеже веков / Э. Б. Арушанян // Ставрополь, 2005. – 574 с.
13. Арушанян, Э. Б. Мелатонин: Биология. Фармакология. Клиника. / Э. Б. Арушанян, Э. В. Бейер // Изд. СтГМУ. - 2015. – 395 с.
14. Арушанян, Э. Б. Неодинаковое влияние острого и хронического введения мелатонина на гипногенное действие гексенала у мышей в зависимости от дозы и времени суток / Э. Б. Арушанян, П. Ботвев Орхий // Фармакология и токсикология. - 1991. - Т. 54. - № 5. - С. 7-9.
15. Арушанян, Э. Б. Универсальные терапевтические возможности мелатонина / Э. Б. Арушанян // Клиническая медицина. - 2013. - № 2. - С.4-8.
16. Арушанян, Э.Б. Антидепрессанты: (в вопросах и ответах) / Э.Б. Арушанян // Ставрополь. - 2002. – 331 с.
17. Батулин, В. А. Влияние резерпина на суточную динамику двигательной активности у крыс / В. А. Батулин, Э. Б. Арушанян // Журнал высшей нервной деятельности им И.П. Павлова. – 1988. –Т. 38. - № 3. – С. 527-532.
18. Бейер, Э. В. Антистрессорные возможности эпифизарного гормона мелатонина в зависимости от экспериментальной модели и выраженности стресса / Э.В. Бейер, А. С. Булгакова, А. А. Скорняков // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2010. - № 2. - 18. – С. 59-63.
19. Бережной, Д. С. Особенности межсигнальных реакций в оборонительном и пищедобывательном рефлексах / Д. С. Бережной, Т. С. Овчинникова, А. Н. Иноземцев // Сборник научных трудов юбилейного симпозиума, посвященного изданию статьи И. М. Сеченова (23 ноября 1863 г.). ИИнтелЛЛ Москва - 2014. - С. 317-328.

20. Воронина, Т. А. Методические рекомендации по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / Т. А. Воронина, С. Б. Середенин, М. А. Яркова [и др.] // Москва, Издание ФГБУ «НЦЭСМП» Минздравсоцразвития России, Гриф и К. –2012. - С. 264 – 275.
21. Данилов, А. Б. Мелатонин – уникальная молекула? / А. Б. Данилов, Ю. М. Курганова // Эффективная терапия. Неврология и психиатрия. – 2013. - № 1. – С. 26-31
22. Западнюк, И. П. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте / И. П. Западнюк, В. И. Западнюк, Е.А.Захария [и др.] // Киев: Выща школа. - 1983. – С.383.
23. Захаров, А. В. Мелатонин — известные и новые области клинического применения / А. В. Захаров, Е. В. Хивинцева, В. Ф. Пятин [и др.] // Ж. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. Спецвыпуски - 2017. – Т.117. – №.4. – С.74-78.
24. Каминская, О. В. Сравнительная оценка действия мелатонина и флуоксетина на модели резерпиновой депрессии / Каминская О. В., Бейер Э. В., Арушанян Э. Б. // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2017. – Т. 12. - №2. – С.180-183.
25. Каминская, О. В. Влияние феназепам, мелатонина и их комбинации на уровень антиоксидантных ферментов в переднем мозге стрессированных крыс / Каминская О. В., Бейер Э. В., Эльбекьян К. С. [и др.] // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2021. - Т. 16. – № 3. – С. 306-307.
26. Каминская, О. В. Влияние хронического введения флуоксетина, мелатонина и их комбинации на динамику суточного ритма двигательной активности крыс / Каминская О.В., Попов А.В. // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2018. – Т. 13. - № 2. - С. 399-402.
27. Караськова, Е. А. Роль тревожных расстройств в генезе нарушений ритма сердца у пациентов аритмологического профиля / Е. А. Караськова, В. Ю. За-

- вьялов // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2006. - №4. – С. 79-87.
28. Ковальзон, В. М. Мелатонин и сон. В кн.: Мелатонин в норме и патологии / В. М. Ковальзон, А. М. Вейн; под ред. Ф. И. Комарова, С. И. Рапопорта, Н. К. Малиновской, В. Н. Анисимова // М.: ИД Медпрактика – М., 2004. - С.182-197.
29. Комаров, Ф. И. Практическая гастроэнтерология / Ф. И. Комаров, М. А. Осадчук, А. М. Осадчук // Медицинское информационное агентство. - 2016. - 480 с.
30. Коновалов, С. С. Мелатонин – дирижёр здоровья / С. С. Коновалов, И. М. Кветной // С.-Петербург, «Прайм-Еврознак» - 2013. – С.160.
31. Куликова, А. Ю. Анализ стоимости лечения пациентов, страдающих депрессивными расстройствами, в условиях здравоохранения Российской Федерации / А. Ю. Куликова, Ю. М. Дедюрина // Фармакоэкономика. - 2011. – Т. 4. - № 1. – С. 24-32.
32. Ованесов, К. Б. Усовершенствованный метод удаления эпифиза у крыс / К.Б. Ованесов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2020. - Т. 18. - № 4. - С. 333-334.
33. Перцов, С. С. Интенсивность окислительных и антиоксидантных процессов в головном мозге крыс с разными параметрами поведения при острой стрессорной нагрузке / С. С. Перцов, Е. В. Коплик, Л. С. Калиниченко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2011. - Т. 152. - №7. - С. 4-8.
34. Попов, А. В. Хронотипические особенности циркадианной локомоции у крыс / А. В. Попов, Э. Б. Арушанян // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2006. - № 2. – С. 58-61.
35. Родина, В. И. Многопараметрический метод комплексной оценки тревожно-фобического состояния у крыс / В. И. Родина, Н. А. Крупина, Г. Н. Крыжановский [и др.] // Журнал высшей нервной деятельности им И.П. Павлова. – 1993. – Т. 43. - № 5. – С. 1006-1011.

36. Собенников, В. С. Комбинированное лечение вальдоксаном и amitriptилином терапевтически резистентной соматизированной депрессии / В. С. Собенников, М.Л. Прокопьева // Журнал неврологии и психиатрии. - 2013. – Т.113. – № 2. – С. 20-24.
37. Стволинский, С. Л. Карнозин (β -аланил-L-гистидин) повышает эффективность обучения в условиях окислительного стресса, связанного с выработкой условного рефлекса с отрицательным подкреплением / С. Л. Стволинский, Т. Н. Фёдорова, Д. С. Бережной [и др.] // Нейрохимия. - 2014. – № 31. – Т. 4. - С. 328-334.
38. Щетинин, Е. В. Биоритмологический подход к оценке принудительного плавания как экспериментальной модели депрессивного состояния / Е. В. Щетинин, В. А. Батулин, Э. Б. Арушаняни [и др.] // Журнал высшей нервной деятельности им И.П. Павлова. – 1989. – Т. 39. - № 5. – С. 536-542.
39. Abbasivash, R. The effect of melatonin on anxiety and pain of tourniquet in intravenous regional anesthesia / R. Abbasivash, S. Salimi, B. Ahsan [et al.] // Adv. Biomed. Res. – 2019. – V. 8. – P. 67.
40. Acil, M. Perioperative effects of melatonin and midazolam premedication on sedation, orientation, anxiety scores and psychomotor performance / M. Acil, E. Basgul, V. Celiker [et al.] // Eur. J. Anaesthesiol. - 2004. - V. 21. – N. 7. – P. 553-7. doi: 10.1017/s0265021504007094
41. Alexopoulos, G. S. Mechanisms and treatment of late-life depression / G. S. Alexopoulos // Transl. Psychiatry. – 2019. - V. 9. –N. 1. – P. 188. doi: 10.1038/s41398-019-0514-6.
42. Amaral, F. G. D. A brief review about melatonin, a pineal hormone / F. G. D. Amaral, J. Cipolla - Neto // 2018. - V. 62. - № 4. – P. 472-479. doi: 10.20945/2359-3997000000066.
43. Arvola, L. Sustained anti-beta-adrenergic effect of melatonin in guinea pig heart papillary muscle / L. Arvola, E. Bertelsen, A. Lochner, K. Ytrehus // Scand. Cardiovasc. J. – 2006. – V. 40. – N. 1. – P. 37-42. doi: 10.1080/14017430500339347

44. Atalik, K. E. Vasoprotection by melatonin and quercetin in rats treated with cisplatin / K. E. Atalik, B. Keles, Y. Uyar [et al.] // *Indian. J. Exp. Biol.* – 2010. - V. 48. – N. 12. – P. 1188-1193.
45. Awasthi, J. R. Development of serotonergic projections to the suprachiasmatic nucleus in the mouse brain / J. R. Awasthi, K. Tamada, E. T. N. Overtonet [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2020. – V. 739. – P.135438. doi: 10.1016/j.neulet.2020.135438.
46. Aynaoglu Yildiz, G. Effect of diazepam, sertraline and melatonin on the stress-induced reproductive disorders and intrauterine growth restriction in female rats / G. Aynaoglu Yildiz, D. Yildiz, O.E. Yapca [et al.] // *J. Matern. Fetal. Neonatal. Med.* – P. 1-7.
47. Azevedo, H. The serotonergic and alpha-1 adrenergic receptor modulator ACH-000029 ameliorates anxiety-like behavior in a post-traumatic stress disorder model / H. Azevedo, M. Ferreira, A. Mascarelloet [et al.] // *Neuropharmacology.* – 2020. – V. 164. – P. 107912. doi: 10.1016/j.neuropharm.2019.107912
48. Azorin, J. M. Depression and circadian rhythm / J. M. Azorin, A. Kaladjian // *Encephale.* – 2009. – V. 35. - Suppl 2. – P. 68-71. doi: 10.1016/S0013-7006(09)75537-X.
49. Basit, H. Clonazepam / H. Basit, C. I. Kahwaji // *Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing.* – 2020.
50. Bauerle, A. Increased generalized anxiety, depression and distress during the COVID-19 pandemic: a cross-sectional study in Germany / A. Bäuerle, M. Teufel, V. Musche [et al.] // *J. Public Health (Oxf).* - 2020. – V. 42. -№ 4. – P.672-678. doi: 10.1093/pubmed/fdaa106.
51. Beigi, B. Pretraining hippocampal stimulation of melatonin type 2 receptors can improve memory acquisition in rats / B. Beigi, S. Shahidi, A. Komaki // *Int. J. Neurosci.* - 2019. - V. 129. - N. 5.- P. 492-500.
52. Belujon, P. Dopamine system dysregulation in major depressive disorders / P. Belujon, A. A Grace // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* – 2017. – V. 20. – N.12.- P.1036-1046. doi: 10.1093/ijnp/pyx056.

53. Benleulmi-Chaachoua, A. Melatonin receptors limit dopamine reuptake by regulating dopamine transporter cell-surface exposure / A. Benleulmi-Chaachoua, A. Hegron, M. L. Boulch [et al.] // *Cell. Mol. Life. Sci.* – 2018. – V. 75. – N. 23. – P. 4357-4370. doi: 10.1007/s00018-018-2876-y.
54. Berardis, D. D. Agomelatine Augmentation of escitalopram therapy in treatment-resistant obsessive-compulsive disorder: a case report / D. D. Berardis, N. Serroni, S. Marini [et al.] // *Case Rep. Psychiatry.* – 2012. – P. 642752. doi: 10.1155/2012/642752.
55. Black, C. N. Oxidative stress in major depressive and anxiety disorders, and the association with antidepressant use; results from a large adult cohort / C. N. Black, M. Bot, P. G. Scheffer [et al.] // *Psychol. Med.* – 2017. – V. 47. – N. 5. – P.936-948. doi: 10.1017/S0033291716002828
56. Blier, P. Neurobiology of depression and mechanism of action of depression treatments / P. Blier // *J. Clin. Psychiatry.* – 2016. – V.77. – N. 3 - P.319. doi: 10.4088/JCP.13097tx3c.
57. Braund, T. A. Antidepressant side effects and their impact on treatment outcome in people with major depressive disorder: an iSPOT-D report / T. A. Braund, G. Tillman, D. M. Palmer [et al.] // *Transl. Psychiatry.* - 2021. – V. 11. – N. 1. – P. 417. doi: 10.1038/s41398-021-01533-1.
58. Brignardello - Petersen, R. Melatonin probably reduces anxiety in patients undergoing third-molar surgical extractions but maybe not as much as midazolam / R. Brignardello-Petersen // *J. Am. Dent. Assoc.* – 2019. – V. 150. – N. 10. – P. 159.
59. Busolini, F. I. A seasonal and age-related study of interstitial cells in the pineal gland of male viscacha (*Lagostomus maximus maximus*) / F. I. Busolini, G. J. Rosales, V. P. Filippa [et al.] // *Anat Rec (Hoboken)* – 2017. – V. 300. – N.10. – P.1847-1857. doi: 10.1002/ar.23621.
60. Butterfield, D. A. Brain lipid peroxidation and alzheimer disease: Synergy between the Butterfield and Mattson laboratories / D. A. Butterfield // *Ageing. Res. Rev.* - 2020. – V. 64. – P.101049. doi: 10.1016/j.arr.2020.101049.

61. Camp, O. G. Melatonin interferes with COVID-19 at several distinct ROS-related steps / O. G. Camp, D. Bai, D. C. Gonullu [et al.] // *J. Inorg. Biochem.* – 2021. – V. 223. – P. 111546. doi: 10.1016/j.jinorgbio.2021.111546.
62. Cardinali, D. P. Melatonin and healthy aging / D. P. Cardinali // *Vitam. Horm.* – 2021. – V. 115. – P. 67-88. doi: 10.1016/bs.vh.2020.12.004.
63. Carillo, N. J. Flumazenil: a review and implications for benzodiazepine overdose / N. J. Carillo, L. Golden, M. Saraghi // *Gen. Dent.* – 2020. – V. 68. – N. 1. – P. 14-17.
64. Carpenter, J.S. Circadian depression: A mood disorder phenotype / J. S. Carpenter, J. J. Crouse, E. M. Scott [et al.] // *Neurosci. Biobehav. Rev.* - 2021. – V. S0149-7634.- N.21. – P.00107-X. doi: 10.1016/j.neubiorev.2021.02.045
65. Carpenter, J.S. Pineal volume and evening melatonin in young people with affective disorders / J.S. Carpenter, A.C. Abelmann, S.N., R. Robillard [et al.] // *Brain. Imaging. Behav.* – 2017. – V. 11 – N. 6. – P. 1741-1750.
66. Carpentieri, A.R. Effect of melatonin and diazepam on the dissociated circadian rhythm in rats / A. R. Carpentieri, M. A. Pujolras, J. J. Chiesa [et al.] // *J. Pineal Res.* - 2006. - V. 40. - P. 318-325.
67. Cecon, E. Melatonin receptor structures shed new light on melatonin research / E. Cecon, L. Liu, R. Jockers // *J. Pineal Res.* - 2019. - V. 67. - N. 4. – P. 12606.
68. Cetinkaya, M. Possible neuroprotective effects of magnesium sulfate and melatonin as both pre- and post-treatment in a neonatal hypoxic-ischemic rat model / M. Cetinkaya, T. Alkan, F. Ozyener [et al.] // *Neonatology.* – 2011. – V. 99. – N. 4. – P. 302-310.
69. Chadha, S. Exploring the role of mitochondrial proteins as molecular target in Alzheimer's disease / S. Chadha, T. Behl, A. Sehgal [et al.] // *Mitochondrion.* – 2021. – V. 56. – P. 62-72. doi: 10.1016/j.mito.2020.11.008.
70. Chen, L. J. Melatonin protects against MPTP/MPP ± induced mitochondrial DNA oxidative damage in vivo and vitro / L. J. Chen, Y. Q. Gao, X. J. Li [et al.] // *J. Pineal Res.* - 2005. - V. 39. – P. 34-42.
71. Chen, X. Human pharmacology of positive GABA-A subtype-selective receptor modulators for the treatment of anxiety / X. Chen, J. V. Gerven, A. Cohen [et al.] //

- Acta. Pharmacol. Sin. – 2019. – V. 40. – N. 5. – P. 571-582. doi: 10.1038/s41401-018-0185-5.
- 72.Chen, X. Pharmacodynamic response profiles of anxiolytic and sedative drugs / X. Chen, F. Broeyer, M. Kam [et al.] // Br. J. Clin. Pharmacol. – 2017. -V. 83. – N. 5. – P. 1028-1038. doi: 10.1111/bcp.13204.
- 73.Chimenti, M. S. The burden of depressive disorders in musculoskeletal diseases: is there an association between mood and inflammation? / M. S. Chimenti, G. L. Fonti, P. Conigliaro [et al.] // Ann. Gen. Psychiatry. – 2021. – V. 20. – N.1. – P.1. doi: 10.1186/s12991-020-00322-2.
- 74.Chitimus, D.M. Melatonin's impact on antioxidative and anti-Inflammatory reprogramming in homeostasis and disease / D. M. Chitimus, M. R. Popescu, S. E. Voiculescu [et al.] // Biomolecules. – 2020. – V. 10. – N. 9. – P.1211. doi: 10.3390/biom10091211.
- 75.Chojnacki, C. Effects of fluoxetine and melatonin on mood, sleep quality and body mass index in postmenopausal women / C. Chojnacki, E. Walecka-Kapica, G. Klupinska // J. Physiol. Pharmacol. – 2015. – V. 66. – N. 5.– P. 665-71.
- 76.Claudia, P. Stimulation of melatonin receptors decreases calcium levels in xenopus-tectal cells by activating GABA(C) receptors / C. Prada, S. B.Udin, A. F. Wiechmann [et al.] // J. Neurophysiol. – 2005. - V. 94. – N. 2. – P. 968-978. doi: 10.1152/jn.01286.2004.
- 77.Claustrat, B. Melatonin: Physiological effects in humans / B. Claustrat, J. Leston // Neurochirurgie. – 2015. – V. 61. – N. 2-3. – P.77-84.
- 78.Comai, S. Melatonin MT₁ receptor as a novel target in neuropsychopharmacology: MT₁ ligands, pathophysiological and therapeutic implications, and perspectives / S. Comai, M. Lopez-Canul, D. De Gregorio // Pharmacol. Res. - 2019.- V.144.- P. 343-356.
- 79.Comais, S. Melatonin MT₁ receptor as a novel target in neuropsychopharmacology: MT₁ ligands, pathophysiological and therapeutic implications, and perspectives / S. Comais, M. Lopez-Canul, D. De Gregorio [et al.] // Pharmacol. Res. – 2019.– V. 144.– P. 343-356.

80. Cordero, M. D. Coenzyme Q10 and alpha-tocopherol protect against amitriptyline toxicity / M. D. Cordero, A. M. Moreno-Fernández, J. L. Gomez-Skarmeta [et al.] // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* - 2009. - V. 235. - N. 3. - P. 329-37. doi: 10.1016/j.taap.2008.12.026.
81. Cutrera, R. A. Effects of the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT and other non-photic stimuli on the circadian rhythm of wheel-running activity in hamsters under different constant condition / R. A. Cutrera, A. Ouarour, P. Pevet // *Neurosci. Lett.* - 1994. - V. 172 - N. 1-2. - P. 27-30.
82. Dagnino-Subiabre A. Chronic stress decreases the expression of sympathetic markers in the pineal gland and increases plasma melatonin concentration in rats / A. Dagnino-Subiabre, J. A. Orellana, C. Carmona-Fontaine [et al.] // *J. Neurochem.* - 2006. - V. 97. - N. 5. - P. 1279-87. doi: 10.1111/j.1471-4159.2006.03787.x.
83. Dean J. G. Biosynthesis and extracellular concentrations of N,N-dimethyltryptamine (DMT) in mammalian brain / J.G. Dean , T. Liu, S. Huff [et al.] // *Sci. Rep.* - 2019. - V. 9. - N. 1. - P.9333. doi: 10.1038/s41598-019-45812-w.
84. De Berardis D. Agomelatine augmentation of escitalopram therapy in treatment-resistant obsessive-compulsive disorder: a case report / D. De Berardis, N. Serroni, S. Marini [et al.] // *Case Rep. Psychiatry.* - 2012. - V. 12. - P. 642752. doi: 10.1155/2012/642752.
85. De Voskin, D. Distinct roles for GABA across multiple timescales in mammalian circadian timekeeping / D. De Voskin, J. Myung, M. D. C. Belle [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci U S A.* - 2015. - V. 112. - N. 29. - P. E3911-9. doi: 10.1073/pnas.1420753112.
86. Difrancesco, S. The role of depressive symptoms and symptom dimensions in actigraphy-assessed sleep, circadian rhythm, and physical activity / S. Difrancesco, B.W. J. H. Penninx, H. Riese [et al.] // *Psychol. Med.* - 2021. - V. 10. - P.1-7.
87. Difrancesco, S. Sleep, circadian rhythm, and physical activity patterns in depressive and anxiety disorders: A 2-week ambulatory assessment study / S. Difrancesco, F.

- Lamers, H. Riese [et al.] // *Depress Anxiety*. – 2019. – V. 36. – N. 10. – P. 975-986. doi: 10.1002/da.22949.
- 88.Djeridane, Y. Diazepam affects both level and amplitude of rat locomotor activity rhythm but has no effect on core body temperature / Y. Djeridane, B. Lemmer, Y. Touitou // *Chrono. boil. Int.* - 2005. – V. 22.- N. 6. – P. 975-85.doi: 10.1080/07420520500395094
- 89.Dmitrzak-Weglarz, M. Pathophysiology of depression: molecular regulation of melatonin homeostasis - current status / M. Dmitrzak-Weglarz, E. Reszka // *Neuropsychobiology*. – 2017. – V. 76.- N. 3. – P. 117-129.doi: 10.1159/000489470.
- 90.Dobson, K. G. Trends in the prevalence of depression and anxiety disorders among Canadian working-age adults between 2000 and 2016 / G. D. Kathleen, N. V. Simone, M. Cameron [et al.] // *Health Rep.* - 2020. – V. 31. - № 12. – P. 12-23. doi: 10.25318/82-003-x202001200002-eng.
- 91.D'Occhio M. J. Exogenous and endogenous factors in seasonality of reproduction in buffalo: A review / M.J. D'Occhio, S.S. Ghuman, G. Neglia [et al.] // *Theriogenology*. – 2020. – V. 150. – P. 186-192. doi: 10.1016/j.theriogenology.2020.01.044
- 92.El-Missiry, M.A. Prophylactic effect of melatonin on lead-induced inhibition of heme biosynthesis and deterioration of antioxidant systems in male rats / M.A. El-Missiry // *J. Biochem. Mol. Toxicol.* - 2000. – V. 14 – N. 1. – P. 57-62.
- 93.Ergun, Y. Combination therapy of imipramine and melatonin: additive antidepressant effect in mouse forced swimming test / Y. Ergün, F. O. Orhan, M. F. Karaaslan // *Eur. J. Pharmacol.* – 2008. – V. 591. – N. 1-3. – P.159-63. doi: 10.1016/j.ejphar.2008.06.070.
- 94.Fava, M. An exploratory study of combination bupropion and melatonin SR in major depressive disorder (MDD): a possible role for neurogenesis in drug discovery / M. Fava, S.D. Targum, A. A. Nierenberg [et al.] // *J. Psychiatr. Res.* – 2012. – V. 46. – N. 12. - P. 1553-63.doi: 10.1016/j.jpsychires.2012.08.013.

95. Fedoce, A. d. G. The role of oxidative stress in anxiety disorder: cause or consequence? / A. d. G. Fedoce, F. Ferreira, R. G. Bota [et al.] // *Free Radic. Res.* – 2018. – V. 52. – N. 7. – P. 737-750. doi: 10.1080/10715762.2018.1475733.
96. Ferlazzo, N. Is Melatonin the Cornucopia of the 21st Century? / N. Ferlazzo, G. Andolina, A. Cannata [et al.] // *Antioxidants (Basel)*. – 2020. – V. 9. - № 11. – P. 1088. doi: 10.3390/antiox9111088.
97. Fernanda, G. A. A brief review about melatonin, a pineal hormone / G.A. Fernanda, C.-N. Jose // *Arch. Endocrinol. Metab.* – 2018. – V. 62. – N. 4. – P. 472-479. doi: 10.20945/2359-3997000000066.
98. Fernandes, P. A. Dual effect of catecholamines and corticosterone crosstalk on pineal gland melatonin synthesis / P.A. Fernandes, E. K. Tamura, L. D'Argenio-Garcia [et al.] // *Neuroendocrinology*. – 2017. – V. 104. – N. 2. - P.126-134. doi: 10.1159/000445189.
99. Fontaine, G.V. Melatonin, ramelteon, suvorexant, and dexmedetomidine to promote sleep and prevent delirium in critically ill patients: a narrative review with practical applications / G. V. Fontaine, C. Der Nigoghossian, L. A. Hamilton // 2020. – V. 43. – N. 2. – P. 232-250.
100. Foyet, S. H. Ethnopharmacological approaches in mood and anxiety disorders. The relevance of the oxidative stress status / S. H. Foyet, I.-M. Balmus, N. A. Hervé [et al.] // *J. Complement. Integr. Med.* – 2017.- V. 14. –N. 2. – P.j/jcim.2017.14.issue-2/jcim-2016-0059/jcim-2016-0059.xml. doi: 10.1515/jcim-2016-0059.
101. Garakani, A. Pharmacotherapy of anxiety disorders: current and emerging treatment options / A. Garakani, J. W. Murrough, R. C. Freire [et al.] // *Front. Psychiatry*. – 2020. – V. 11. – P. 595584. doi: 10.3389/fpsy.2020.595584.
102. Garfinkel, D. Facilitation of benzodiazepine discontinuation by melatonin: a new clinical approach / D. Garfinkel, N. Zisapel, J. Wainstein [et al.] // *Arch. Intern. Med.* – 1999. – V. 159. – N. 20. – P.2456-60. doi: 10.1001/archinte.159.20.2456.
103. Gawlinski, D. Adaptive mechanisms following antidepressant drugs: Focus on serotonin 5-HT_{2A} receptors / D. Gawlinski, I. Smaga, M. Zaniewska [et al.] //

- Pharmacol. Rep. – 2019. – V. 71. – N. 6. – P.994-1000. doi: 10.1016/j.pharep.2019.05.012.
104. Genario, R. Sex differences in adult zebrafish anxiolytic-like responses to diazepam and melatonin / R. Genario, A. C. V. V. Giacomini, M. S. de Abreu [et al.] // *Neurosci. Lett.* – 2020. – V. 714. – P. 134548.
105. Getachew, B. Role of cortical alpha-2 adrenoceptors in alcohol withdrawal-induced depression and tricyclic antidepressants / B. Getachew, S. R. Hauser, A. B. Csoka [et al.] // *Drug. Alcohol. Depend.* – 2017. – V. 175. – P. 133-139. doi: 10.1016/j.drugaldep.
106. Ghaeli, P. Comparison of the effects of melatonin and oxazepam on anxiety levels and sleep quality in patients with ST-segment-elevation myocardial infarction following primary percutaneous coronary intervention: a randomized clinical trial / P. Ghaeli, M. Solduzian, S. Vejdani [et al.] // *Ann. Pharmacother.* – 2018. – V. 52. – N. 10. – P. 949-955.
107. Gitto, E. Melatonin versus midazolam premedication in children undergoing surgery: A pilot study / E. Gitto, L. Marseglia, G. D'Angelo [et al.] // *J. Paediatr. Child Health.* – 2016. – V. 52 – N. 3 – P. 291-295.
108. Goodwin, G.M. Generalised anxiety disorder and depression: contemporary treatment approaches / G. M. Goodwin, D. J. Stein // *Adv. Ther.* - 2021 – V. 38. – P. 45–51. doi: 10.1007/s12325-021-01859-8.
109. Gorwood, P. The safety of agomelatine in standard medical practice in depressed patients: A 26-week international multicentre cohort study / P. Gorwood, J. Benichou, N. Moore [et al.] // *Hum. Psychopharmacol.* - 2021. – V. 36. – N. 1. – P. 1-11. doi: 10.1002/hup.2759
110. Gorman, M. R. Temporal organization of pineal melatonin signaling in mammals / M. R. Gorman // *Mol Cell Endocrinol.* – 2019.– V. 1.– N. 503.– P.110-687.
111. Goswami, N. Falls risk, circadian rhythms and melatonin: current perspectives / N. Goswami, C. Abulafia, D. Vigo [et al.] // *Clin. Interv. Aging.* – 2020. – V. 15. – P. 2165-2174. doi: 10.2147/CIA.S283342.

112. Grace, A. A. Dysregulation of the dopamine system in the pathophysiology of schizophrenia and depression / A.A. Grace // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2016. – V. 17. – N. 8. – P. 524-532. doi: 10.1038/nrn.2016.57.
113. Guney, E. Oxidative stress in children and adolescents with anxiety disorders / E. Guney, M. F. Ceylan, A. Tektas [et al.] // *J. Affect. Disord.* – 2014. – V. 156. – P. 62-66. doi: 10.1016/j.jad.2013.11.016.
114. Haleagrahara, N. Flavonoid quercetin protects against swimming stress-induced changes in oxidative biomarkers in the hypothalamus of rats / N. Haleagrahara, A. Radhakrishnan, N. Lee [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* – 2009. – V. 621. – N. 1-3. – P. 46-52. doi: 10.1016/j.ejphar.2009.08.030.
115. Hansen, M. V. Melatonin for pre- and postoperative anxiety in adults / M.V. Hansen, N. L. Halladin, J. Rosenberg [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* – 2015. – N. 4. – CD009861.
116. Haraguchi, S. Pineal neurosteroids: biosynthesis and physiological functions / S. Haraguchi, K. Tsutsui // *Front Endocrinol (Lausanne)*. – 2020. – V. 11. – P. 549. doi: 10.3389/fendo.2020.00549.
117. Hayes, J. D. Oxidative stress in cancer / J. D. Hayes, A. T. Dinkova-Kostova, K. D. Tew // *Cancer. Cell.* – 2020. – V. 38. – N. 2. – P. 167-197. doi: 10.1016/j.ccell.2020.06.001.
118. Hong, W. Biological Rhythms Advance in Depressive Disorder / W. Hong, Q. Zhang // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2019. – V. 1180. – P. 117-133. doi: 10.1007/978-981-32-9271-0_6.
119. Houwing, D. J. Perinatal fluoxetine exposure disrupts the circadian response to a phase-shifting challenge in female rats / D. J. Houwing, J. d. Waard, A. S. Ramsteijn // *Psychopharmacology (Berl)*. – 2020. – V. 237. – N. 8. – P. 2555-2568. doi: 10.1007/s00213-020-05556-2
120. Hoyos, C. M. Circadian rhythm and sleep alterations in older people with lifetime depression: a case-control study / C. M. Hoyos, C. Gordon, Z. Terpening [et al.] // *BMC Psychiatry*. – 2020. – V.20. – N. 1. – P. 192. doi: 10.1186/s12888-020-02606-z.

121. Ilahi, S. Physiology, pineal gland / S. Ilahi, T. B. Ilahi // Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing - 2020.
122. Impellizzeri, P. Premedication with melatonin vs midazolam: efficacy on anxiety and compliance in paediatric surgical patients / P. Impellizzeri, E. Vinci, M. C. Gugliandolo [et al.] // Eur. J. Pediatr. – 2017. – V. 176. – N. 7. – P. 947 – 953.
123. Javaherforooshzadeh, F. Comparison of effects of melatonin and gabapentin on post operative anxiety and pain in lumbar spine surgery: a randomized clinical trial / F. Javaherforooshzadeh, I. Amirpour, F. Janatmakan [et al.] // Anesth. Pain. Med. – 2018. – V. 8. – N. 3. – P. 68763.
124. Jiménez-Fernández, S. Oxidative stress parameters and antioxidants in patients with bipolar disorder: Results from a meta-analysis comparing patients, including stratification by polarity and euthymic status, with healthy controls / S. Jiménez-Fernández, M. Gurpegui, D. Garrote-Rojas [et al.] // Bipolar. Disord. - 2021. – V. 23. – N.2. – P.117-129. doi: 10.1111/bdi.12980.
125. Juybari K. B. Melatonin potentials against viral infections including COVID-19: Current evidence and new findings / K. B. Juybari, M. H. Pourhanifeh, A. Hosseinzadeh [et al.] // Virus Res. – 2020. – V. 287. – P. 198108. doi: 10.1016/j.virusres.2020.198108.
126. Kalinichenko, L.S. Individual differences in inflammatory and oxidative mechanisms of stress-related mood disorders / L. S. Kalinichenko, J. Kornhuber, C. P. Muller // Front . Neuroendocrinol. - 2019. - V. 55. – P. 100783. doi: 10.1016/j.yfrne.2019.100783.
127. Kalmbach, D. A. The impact of stress on sleep: Pathogenic sleep reactivity as a vulnerability to insomnia and circadian disorders / D. A Kalmbach, J. R Anderson, C. L Drake // J. Sleep Res. – 2018. – V. 27. – N. 6. – P. 12710. doi: 10.1111/jsr.12710.
128. Kamal, M. Convergence of melatonin and serotonin (5-HT) signaling at MT2/5-HT2C receptor heteromers / M. Kamal, F. Gbahou, J-L. Guillaume [et al.] // J. Biol. Chem. – 2015. – V. 290. – N. 18. – P.11537-46. doi: 10.1074/jbc.M114.559542.

129. Kandalepas, P. C. Melatonin Signal Transduction Pathways Require E-Box-Mediated Transcription of *Per1* and *Per2* to Reset the SCN Clock at Dusk / P. C. Kandalepas, J. W. Mitchell, M. U. Gillette // *PLoS. One.* – 2016. – V. 11. – N. 6. – P.e0157824.doi: 10.1371/journal.pone.0157824.
130. Karakas, A. The effects of the intraamygdalar melatonin injections on the anxiety like behavior and the spatial memory performance in male Wistar rats / A. Karakas, H. Coskun, A. Kaya // *Behav. Brain. Res.* – 2011. – V. 222. – N. 1. – P.141-50.
131. Kawai, H. Chronopharmacological analysis of antidepressant activity of a dual-action serotonin noradrenaline reuptake inhibitor (SNRI), milnacipran, in rats / H. Kawai, M. Machida, T. Ishibashi [et al.] // *Biol. Pharm. Bull.* – 2018. – V. 41. – N. 2. – P. 213-219. doi: 10.1248/bpb.b17-00733.
132. Kendrick, T. Strategies to reduce use of antidepressants / T. Kendrick // *Br. J. Clin. Pharmacol.* - 2021. – V. 87. – N. 1. – P.23-33. doi: 10.1111/bcp.14475.
133. Kesik, V. Melatonin ameliorates doxorubicin-induced skin necrosis in rats / V. Kesik, B. Kurt, T. Tunc [et al.] // *Ann. Plast. Surg.* - 2010. – V. 65. – N. 2. - P. 250-253.
134. Khaksar, M. Protective effects of melatonin on long-term administration of fluoxetine in rats / M. Khaksar, A. Oryan, M. Sayyari // *Exp. Toxicol. Pathol.* – 2017. – V. 69. – N. 8. – P. 564-574. doi: 10.1016/j.etp.2017.05.002.
135. Khaksar, M. Protective effects of melatonin on long-term administration of fluoxetine in rats / M. Khaksar, A. Oryan, M. Sayyari [et al.] // *Exp. Toxicol. Pathol.* - 2017. – V. 69. – N. 8. – P. 564-574. doi: 10.1016/j.etp.2017.05.002.
136. Kirsz, K. A review on the effect of the photoperiod and melatonin on interactions between ghrelin and serotonin / K. Kirsz, D. A. Zieba // *Gen. Comp. Endocrinol.* – 2012. – V. 179. – N. 2. – P. 248-53. doi: 10.1016/j.ygcen.2012.08.025.
137. Klosen, P. MT1 and MT2 melatonin receptors are expressed in nonoverlapping neuronal populations / P. Klosen, S. Lapmanee, C. Schuster [et al.] // *J. Pineal. Res.* – 2019. – V. 67. – N. 1. – P. e12575.

138. Koh, W. Melatonin promotes puromycin-induced apoptosis with activation of caspase-3 and 5'-adenosine monophosphate-activated kinase-alpha in human leukemia HL-60 cells / W. Koh, S. J. Jeong, H. J. Lee [et al.] // *J. Pineal. Res.* – 2011. – V. 50. – N. 4. – P. 367-373.
139. Koshoridze, N. I. Quantitative Alterations in the Products of Lipid Peroxidation under Stress. / N. I. Koshoridze, K. O. Menabde, Z. T. Kuchukashvili [et al.] // *J. Stress Physiology & Biochemistry.* - 2010. - V. 6. - N. 2. – P. 4-9.
140. Kosonsiriluk, S. Enhanced GABAergic inhibition in the premammillary nucleus of photorefractory turkey hens via GABAA receptor upregulation / S.Kosonsiriluk, V. Chaiworakul, L. J. Mauro [et al.] // *Gen. Comp. Endocrinol.* 2016. – V. 230 – 231. – P. 57-66. doi: 10.1016/j.ygcen.2016.04.003.
141. Krolow, R. Oxidative imbalance and anxiety disorders / R. Krolow, D. M. Arcego, C. Noschang [et al.] // *Curr. Neuropharmacol.* – 2014. – V. 12. – N. 2. – P.193-204. doi: 10.2174/1570159X11666131120223530.
142. Kruse, J. S. Monoamine oxidase inhibitors phase delay the circadian rhythms of the suprachiasmatic nuclei multiple unit activity and wheel-running in hamsters and rats / J.S. Kruse // *Abstr. Soc. Neurosci.* – 1986. – V.12. – P. 210.
143. Krystal, A. D. Chronobiologic parameter changes in patients with major depressive disorder and sleep disturbance treated with adjunctive brexpiprazole: An open-label, flexible-dose, exploratory substudy / A. D. Krystal, A. Mittoux, A. Lindsten [et al.] // *J. Affect Disord.* – 2021. – V. 278. – P. 288-295. doi: 10.1016/j.jad.2020.09.026.
144. Kumar, A. Buspirone along with melatonin attenuates oxidative damage and anxiety-like behavior in a mouse model of immobilization stress / A. Kumar, G. Kaur, P. Rinwa // *Chin. J. Nat. Med.* – 2014. – V.12. – N.8. – P.582-589. doi: 10.1016/S1875-5364(14)60089-3.
145. Kumar, A. Possible role of trazodone and imipramine in sleep deprivation-induced anxiety-like behavior and oxidative damage in mice / A. Kumar, R. Garg // *Methods. Find. Exp. Clin. Pharmacol.* – 2009. – V.31. – N. 6. – P.383-387. doi: 10.1358/mf.2009.31.6.1386992.

146. Laino, C. H. Potentiation of omega-3 fatty acid antidepressant-like effects with low non-antidepressant doses of fluoxetine and mirtazapine / C. H. Laino, C. Fonseca, N. Sterin-Speziale, N. Slobodianik [et al.] // *Eur. J. Pharmacol.* - 2010. – V. 648. – N. 1-3. – P. 117-26. doi: 10.1016/j.ejphar.2010.08.047
147. Laios, K. The Pineal Gland and its earliest physiological description / K. Laios // *Hormones (Athens)*. – 2017. - V.16. - N. 3. - P. 328-330.
148. Langer, S. Z. High affinity 3H-imipramine binding: a new biological marker in depression / S. Z. Langer, E. Zarifian, M. Briley [et al.] // *Pharmacopsychiat.* - 1982. - V.15. – P.4-8.
149. Lee, H - J. Is Advancing Circadian Rhythm the Mechanism of Antidepressants? / H. - J. Lee // *Psychiatry Investig.* - 2019. – V. 16. – N. 7. – P. 479-483. doi: 10.30773/pi.2019.06.20.
150. Lee, K. H. Neuroprotective effect of antioxidants in the brain / K. H. Lee, M. Cha, B. H. Lee // *Int. J. Mol. Sci.* - 2020. – V.21. – N. 19. – P. 7152. doi: 10.3390/ijms21197152.
151. Li, Z. Q. Effects of combination treatment of dexamethasone and melatonin on brain injury in intracerebral hemorrhage model in rats / Z. Q. Li, G. B. Liang, Y. X. Xue [et al.] // *Brain. Res.* – 2009. – V. 6. – N. 1264. – P. 98-103.
152. Li, Q. S. Analysis of 23 antidepressant efficacy survey data: implication of circadian rhythm and neuroplasticity in bupropion response / Q. S. Li, C. Tian, G. R. Seabrook [et al.] // *Transl. Psychiatry.* – 2016. – V. 6. – N. 9. – P. e889. doi: 10.1038/tp.2016.171.
153. Liu, B. Effects of 5-HT₇ receptors on circadian rhythm of mice anesthetized with isoflurane / B. Liu, S. Chu, T. Liu [et al.] // *Chronobiol. Int.* – 2021. – V. 38. – N. 1. – P. 38-45. doi: 10.1080/07420528.2020.1832111
154. Liu, J. Role of the MT1 and MT2 melatonin receptors in mediating depressive- and anxiety-like behaviors in C3H / He N mice / J. Liu, S. J. Clough, M. L. Dubocovich // *Genes. Brain. Behav.* – 2017. – V. 16. - N. 5. – P. 546-553.

155. Lochmann, D. Selective Serotonin Reuptake Inhibitors / D. Lochmann, TRichardson // *Handb. Exp. Pharmacol.* – 2019. – N. 250. – P.135-144. doi: 10.1007/164_2018_172.
156. Loiseau, F. Effects of melatonin and agomelatine in anxiety-related procedures in rats: interaction with diazepam / F. Loiseau, C. L. Bihan, M. Hamon, M.-H. Thiébot // *Eur. Neuropsychopharmacol.* – 2006. – V. 16- N. 6. – P .417-28. doi: 10.1016/j.euroneuro.2005.11.007
157. Lundsgaard, C. L. Discontinuation of antidepressants / C. C. Lundsgaard, P. Videbech // *Ugeskr.Laeger.* - 2020. – V. 182. - № 50. – P. V06200457.
158. Madireddy, S. Regulation of Reactive Oxygen Species-Mediated Damage in the Pathogenesis of Schizophrenia / S. Madireddy, S. Madireddy // *Brain. Sci.* - 2020. - V. 10. – N. 10. – P. 742. doi: 10.3390/brainsci10100742.
159. Madsen, B. K. Melatonin for preoperative and postoperative anxiety in adults / B. K. Madsen, D. Zetner, A. M. Møller [et al.] // *Cochrane Database Syst. Rev.* - 2020. - V. 12. – N. 12. – P. CD009861. doi: 10.1002/14651858.CD009861.
160. Maes, M. Generalized anxiety disorder (GAD) and comorbid major depression with GAD are characterized by enhanced nitro-oxidative stress, increased lipid peroxidation, and lowered lipid-associated antioxidant defenses / M. Maes, K. L. Bonifacio, N. R. Morelli [et al.] // *Neurotox. Res.* - 2018. – V. 34. – N. 3. – P. 489-510. doi: 10.1007/s12640-018-9906-2.
161. Malpaux, B. Melatonin and seasonal reproduction: understanding the neuroendocrine mechanisms using the sheep as a model / B. Malpaux, H. Tricoire, F. Mailliet [et al.] // *Reprod Suppl.* – 2002. – V. 59.- P. 167-79.
162. Manchia, M. Investigating the relationship between melatonin levels, melatonin system, microbiota composition and bipolar disorder psychopathology across the different phases of the disease / M. Manchia, A. Squassina, C. Pisanu [et al.] // *Int. J. Bipolar. Disord.* – 2019. - V. 7. – P. 27.
163. Marseglia, L. Analgesic, anxiolytic and anaesthetic effects of melatonin: new potential uses in pediatrics / L. Marseglia, G. D'Angelo, S. Manti [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2015. – V. 16. – N. 1 – P. 1209–1220.

164. Mayo, J. C. Melatonin from an antioxidant to a classic hormone or a tissue factor: experimental and clinical aspects 2019 / J. C. Mayo, R. M. Sainz // *Int. J. Mol. Sci.* – 2020. – V. 21. – N.10. – P. 3645. doi: 10.3390/ijms21103645.
165. Meijer, J. H. Imipramine treatment affects the circadian pacemaker of the supra-chiasmatic nucleus / J.H. Meijer // *Psychopharmacol.* – 1988. – V. 96., Suppl. – P. 96.
166. Menculini, G. Depressive mood and circadian rhythms disturbances as outcomes of seasonal affective disorder treatment: A systematic review / G. Menculini, N. Verdolini, A. Murru [et al.] // *J. Affect. Disord.* - 2018. – V. 241. – P. 608-626. doi: 10.1016/j.jad.2018.08.071.
167. Mendoza, J. Circadian insights into the biology of depression: Symptoms, treatments and animal models / J. Mendoza // *Behav. Brain. Res.* – 2019. – V. 376. – P. 112186. doi: 10.1016/j.bbr.2019.112186.
168. Michalska, P. When it comes to an end: oxidative stress crosstalk with protein aggregation and neuroinflammation induce neurodegeneration / P. Michalska, R. León // *Antioxidants (Basel)*. – 2020. – V. 9. – N. 8. – P. 740. doi: 10.3390/antiox9080740.
169. Mohammadi, A. B. Sericin alleviates restraint stress induced depressive- and anxiety-like behaviors via modulation of oxidative stress, neuroinflammation and apoptosis in the prefrontal cortex and hippocampus / A. B. Mohammadi, M. Torbati, F. Farajdokht [et al.] // *Brain. Res.* – 2019. – V. 1715. – P. 47-56. doi: 10.1016/j.brainres.2019.03.020.
170. Moldavan, M. GABA transporters regulate tonic and synaptic GABA_A receptor-mediated currents in the suprachiasmatic nucleus neurons / M. Moldavan, O. Cravetchi, C. N. Allen // *J. Neurophysiol.* – 2017. – V. 118. – N. 6. – P. 3092-3106. doi: 10.1152/jn.00194.2017
171. Moller, M. The anatomy and innervation of the mammalian pineal gland / M. Moller, F.M. Baeres // *Cell Tissue Res.* – 2002. – V. 309. – N. 1. – P. 139-150.

172. Monecke, S. Photoperiod can entrain circannual rhythms in pinealectomized European hamsters / S. Monecke, D. Sage-Ciocca, F. Wollnik [et al.] // *J. Biol. Rhythms*. – 2013. – V. 28. – N. 4. – P. 278-90.
173. Morvaridzadeh, M. Effect of melatonin supplementation on oxidative stress parameters: A systematic review and meta-analysis / M. Morvaridzadeh, E. Sadeghi, S. Agah [et al.] // *Pharmacol. Res.* – 2020. – V. 161. – P. 105210. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105210.
174. Myung, J. GABA-mediated repulsive coupling between circadian clock neurons in the SCN encodes seasonal time / J. Myung, S. Hong, D. D. Woskin [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 2015. – V. 112. – N. 29. – P. E3920-9. doi: 10.1073/pnas.1421200112
175. Nasehi, M. Effects of precondition α_2 -adrenoceptor agents on memory- and anxiety-related processes in the transient cerebral ischemic rats / M. Nasehi, EsmailImani, M. Ebrahimi-Ghiri [et al.] // *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* - 2020. – V. 393. – N. 3. - P. 315-324. doi: 10.1007/s00210-019-01723-1.
176. Navari, R. M. Olanzapine for the prevention and treatment of chronic nausea and chemotherapy-induced nausea and vomiting / R. M. Navari // *Eur. J. Pharmacol.* – 2014. – V. 722. – P. 180-6. doi: 10.1016/j.ejphar.2013.08.048.
177. Ng, K. Y. Melatonin receptors: distribution in mammalian brain and their respective putative functions / K.Y. Ng, M.K. Leong, H. Liang [et al.] // *Brain. Struct. Funct.* – 2017. – V. 222. – N. 7. – P. 2921-2939.
178. Nie, L. Melatonin ameliorates anxiety and depression-like behaviors and modulates proteomic changes in triple transgenic mice of Alzheimer's disease / L. Nie, G. Wei, S. Peng [et al.] // *Biofactors*. - 2017. – V. 43. – N. 4. – P. 593-611.
179. Niedzielak, T. 5-HT_{1A} and α_2 adrenergic receptor levels are associated with high anxiety-like patterns and impulsivity in selectively bred Long Evans rats / T. Niedzielak, R. Ravenelle, M. Joseph [et al.] // *Behav. Brain. Res.* – 2020. – V. 383. – P. 112522. doi: 10.1016/j.bbr.2020.112522.

180. Ochoa-Sanchez, R. Anxiolytic effects of the melatonin MT (2) receptor partial agonist UCM765: comparison with melatonin and diazepam / R. Ochoa-Sanchez, Q. Rainer, S. Comai [et al.] // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* – 2012. – V. 39. – N. 2. – P. 318-25.
181. Oishi, A. Melatonin receptors, brain functions, and therapies / A. Oishi, F. Gbahou, R. Jockers // *Handb. Clin. Neurol.* - 2021. – V. 179. – P. 345-356. doi: 10.1016/B978-0-12-819975-6.00022-4.
182. Olcese J. M. Melatonin and female reproduction: an expanding universe / J. M. Olcese // *Front Endocrinol (Lausanne).* – 2020. – V. 11. – P. 85. doi: 10.3389/fendo.2020.00085.
183. Ono, D. GABAergic mechanisms in the suprachiasmatic nucleus that influence circadian rhythm / D. Ono // *J. Neurochem.* - 2021. - V. 157. – N. 1. – P. 31-41. doi: 10.1111/jnc.15012.
184. Ono, D. Role of GABA in the regulation of the central circadian clock of the suprachiasmatic nucleus / D. Ono, K.-I. Honma, Y. Yanagawa [et al.] // *J. Physiol. Sci.* – 2018. – V. 68. – N. 4. – P. 333-343. doi: 10.1007/s12576-018-0604-x.
185. Ono, D. GABA in the suprachiasmatic nucleus refines circadian output rhythms in mice / D. Ono, K.-I. Honma, Y. Yanagawa [et al.] // *Commun. Biol.* – 2019. – V. 2. - P. 232. doi: 10.1038/s42003-019-0483-6
186. Otmani, S. Effects of prolonged-release melatonin, zolpidem, and their combination on psychomotor functions, memory recall, and driving skills in healthy middle aged and elderly volunteers / S. Otmani, A. Demazieres, C. Staner [et al.] // *Hum. Psychopharmacol.* – 2008. – V. 23. – N. 8. – P. 693-705.
187. Oyefeso, F. A. Brain organoids: a promising model to assess oxidative stress-induced Central Nervous System damage / F. A. Oyefeso, A. R. Muotri, C. G. Wilson [et al.] // *Dev. Neurobiol.* – 2021. doi: 10.1002/dneu.22828.
188. Ozcelik, M. Clinical evaluation of biological rhythm domains in patients with major depression / M. Ozcelik, C. Sahbaz // *Braz. J. Psychiatry.* – 2020. – V. 42. – N. 3. – P. 258-263. doi: 10.1590/1516-4446-2019-0570.

189. Pandi - Perumal, S. R. Clarifying the role of sleep in depression: A narrative review / S. R. Pandi - Perumal, J. M. Monti, D. Burman [et al.] // *Psychiatry. Res.* - 2020. – V. 291. – P. 113239. doi: 10.1016/j.psychres.2020.113239.
190. Pang, C. S. Effects of melatonin, morphine and diazepam on formalin-induced nociception in mice / C. S. Pang, S. F. Tsang, J. C. Yang // *Life Sci.* – 2001. - V. 68. – N. 8. – P. 943-51.
191. Pantiya, P. Mitochondrial abnormalities in neurodegenerative models and possible interventions: Focus on Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease / P. Pantiya, C. Thonusin, N. Chattipakorn [et al.] // *Mitochondrion.* – 2020. – V. 55. – P. 14-47. doi: 10.1016/j.mito.2020.08.003.
192. Parmar, P. Melatonin projects against cooper-mediated free radicals damage / P. Parmar, J. Limson, T. Nyokong [et al.] // *J. Pineal Res.* - 2002. – V. 32. – N. 4. – P. 237-242.
193. Patel, S. Revisiting the pineal gland: a review of calcification, masses, precocious puberty, and melatonin functions / S. Patel, B. Rahmani, J. Gandhi // *J. Neurosci.* - 2019.- V.12. - P. 1-21.
194. Patel, T. A comparative study between oral melatonin and oral midazolam on preoperative anxiety, cognitive, and psychomotor functions / T. Patel, M.S. Kurdi // *J. Anaesthesiol. Clin. Pharmacol.* - 2015. – V. 31 – N.1 – P. 37-43.
195. Paul, R. Melatonin protects against behavioral deficits, dopamine loss and oxidative stress in homocysteine model of Parkinson's disease / R. Paul, B. C. Phukan, A. J. Thenmozhi [et al.] // *Life. Sci.* – 2018. – V. 192. – P. 238-245. doi: 10.1016/j.lfs.2017.11.016.
196. Pechánová, O. Protein remodelling of the heart in NO-deficient hypertension: the effect of captopril / O. Pechanova, I. Bernatova, V. Pelouch [et al.] // *J. Mol. Cell. Cardiol.* – 1997. – V. 29. – N. 12. – P. 3365-74.
197. Penev, P. D. Monoamine depletion blocks triazolam-induced phase advances of the circadian clock in hamsters / P. D. Penev, P. C. Zee, F. W. Turek // *Brain Res.* - 1994. - V. 637. – N. 1-2. - P.255-261.

198. Pévet, P. Melatonin receptors as therapeutic targets in the suprachiasmatic nucleus / P.Pevet // *Expert. Opin. Ther. Targets.* – 2016. – V. 20. – N.10. – P. 1209-18. doi: 10.1080/14728222.2016.1179284.
199. Pevet, P. The hormone melatonin: Animal studies / P. Pevet, P. Klosen, M. P. Felder-Schmittbuhl // *Best. Pract. Res. Clin Endocrinol. Metab.* – 2017. – V. 31. – N. 6. – P. 547-559. doi: 10.1016/j.beem.2017.10.010.
200. Pinato, L. Day/night expression of MT₁ and MT₂ receptors in hypothalamic nuclei of the primate *Sapajusapella* / L. Pinato, D. Ramos, A. Hataka [et al.] // *J. Chem. Neuroanat.* – 2017. – V. 81. – P. 10-17. doi: 10.1016/j.jchemneu.2017.01.005.
201. Pisoschi, A. M. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review / A. M. Pisoschi, A. Pop // *Eur. J. Med. Chem.* - 2015. – V. 97. – P. 55-74. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
202. Pitsillou, E. The circadian machinery links metabolic disorders and depression: A review of pathways, proteins and potential pharmacological interventions / E. Pitsillou, J.Liang, A. Hung [et al.] // *Life Sci.* – 2021. – V. 265. – P.118809. doi: 10.1016/j.lfs.2020.118809.
203. Pokharel, K. Premedication with oral alprazolam and melatonin combination: a comparison with either alone - a randomized controlled factorial trial / K. Pokharel, M. Tripathi, P. K. Gupta [et al.] // *Biomed. Res. Int.* – 2014. – P. 356964. doi: 10.1155/2014/356964
204. Poprac, P. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases / P. Poprac, K. Jomova, M. Simunkova [et al.] // *Trends. Pharmacol. Sci.*- 2017. – V. 38. – N.7. – P. 592-607. doi: 10.1016/j.tips.2017.04.005
205. Potmesil, P. What combinations of agomelatine with other antidepressants could be successful during the treatment of major depressive disorder or anxiety disorders in clinical practice? / P.Potmesil // *Ther. Adv. Psychopharmacol.* – 2019. – V. 9. – P. 2045125319855206. doi: 10.1177/2045125319855206.
206. Prada C. Stimulation of melatonin receptors decreases calcium levels in xenopus tectal cells by activating GABA(C) receptors / C. Prada, S. B. Udin, A. F. Wiech-

- mann [et al.] // *J. Neurophysiol.* – 2005. – V. 94. –N. 2. –P. 968-78. doi: 10.1152/jn.01286.2004.
207. Pytka, K. The role of serotonergic, adrenergic and dopaminergic receptors in antidepressant-like effect / K. Pytka, K. Podkowa, A. Rapacz [et al.] // *Pharmacol. Rep.* – 2016. – V. 68. – N. 2. – P. 263-74. doi: 10.1016/j.pharep.2015.08.007.
208. Quera-Salva, M. A. Melatonin: Physiological and pharmacological aspects related to sleep: The interest of a prolonged-release formulation (Circadin) in insomnia / M. A. Quera-Salva, B. Claustrat // *Encephale.* – 2018. - V. 44. – N. 6. – P. 548-557.
209. Rahman, S. A. Antidepressant action of melatonin in the treatment of delayed sleep phase syndrome / S. A. Rahman, L. Kayumov, C. M. Shapiro // *Sleep Med.* – 2010. – V. 11. – N. 2. – P. 131-136.
210. Raines, D. E. Flumazenil Modulation of the γ -Aminobutyric Acid Type A Receptor: Competitive versus Noncompetitive Antagonism at the Agonist-binding Site / D. E. Raines // *Anesthesiology.* – 2017. – V. 126. – N. 2. – P. 350-351. doi: 10.1097/ALN.0000000000001444.
211. Ramírez-Rodríguez, G. Melatonin synergizes with citalopram to induce antidepressant-like behavior and to promote hippocampal neurogenesis in adult mice / G. Ramírez-Rodríguez, N. M. Vega-Rivera, J. Oikawa-Sala [et al.] // *J. Pineal. Res.* – 2014. – V. 56. – N. 4. – P. 450-461. doi: 10.1111/jpi.12136.
212. Rebai, R. Agomelatine effects on fat-enriched diet induced neuroinflammation and depression-like behavior in rats / R. Rebai, L. Jasmin, A. Boudah // *Biomed. Pharmacother.* - 2021. – V. 135. – P. 111246. doi: 10.1016/j.biopha.2021.111246
213. Reiter, R. J. Beneficial effects of melatonin in cardiovascular disease / R. J. Reiter, D.X. Tan, S. D. Paredes [et al.] // *Ann. Med.* – 2010. - V. 42. – N. 4. – P. 276-85.
214. Reiter R. J. Therapeutic algorithm for use of melatonin in patients with COVID-19 / R. J. Reiter, P. Abreu-Gonzalez, P. E. Marik [et al.] // *Front Med (Lausanne).* – 2020. – V. 7. – P. 226. doi: 10.3389/fmed.2020.00226.

215. Ren, X. Mental health during the Covid-19 outbreak in China: a meta-analysis / X. Ren, W. Huang, H. Pan [et al.] // *Psychiatr. Q.* - 2020. – 91. – N. 4. – P. 1033-1045. doi: 10.1007/s11126-020-09796-5.
216. Riga, M. S. Sub-chronic vortioxetine (but not escitalopram) normalizes brain rhythm alterations and memory deficits induced by serotonin depletion in rats / M. S. Riga, C. Sanchez, P. Celada [et al.] // *Neuropharmacology.* – 2020. – V. 178. – P. 108238. doi: 10.1016/j.neuropharm.2020.108238.
217. Rosenthal, S. J. Seasonal effects on bipolar disorder: A closer look / S. J. Rosenthal, T. Josephs, O. Kovtun [et al.] // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2020. – V. 115. – P.199-219. doi: 10.1016/j.neubiorev.2020.05.017.
218. Rossetti, A. C. Oxidation-reduction mechanisms in psychiatric disorders: A novel target for pharmacological intervention / A. C. Rossetti, M. S. Paladini, M. A. Riva [et al.] // *Pharmacol. Ther.* – 2020. – V. 210. – P. 107520. doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107520.
219. Rozenblit-Susan, S. Serotonin suppresses food anticipatory activity and synchronizes the food-entrainable oscillator during time-restricted feeding / S. Rozenblit-Susan, N. Chapnik, Y. Genzeretetal. // *Behav. Brain. Res.* – 2016. – V. 297. – P. 150-154. doi: 10.1016/j.bbr.2015.10.019.
220. Ryan, M. Drug treatment strategies for depression in Parkinson disease / M. Ryan, C. V. Eatmon, J. T Slevin / *Expert. Opin. Pharmacother.* – 2019. – V. 20. – N. 11.- P. 1351-1363. doi: 10.1080/14656566.2019.1612877
221. Saenz de Miera, C. Melatonin-independent photoperiodic entrainment of the circannual TSH rhythm in the pars tuberalis of the european hamster / C. Saenz de Miera, D. Sage-Ciocca, V. Simonneaux [et al.] // *J. Biol. Rhythms.* – 2018. - V. 33. – N. 3. – P. 302-317.
222. Saha, K. Understanding side effects of antidepressants: large-scale longitudinal study on social media data / K. Saha, J. Torous, E. Kiciman [et al.] // *J. MIR Ment. Health.* – 2021. – V. 8. - № 3. – P. e26589. doi: 10.2196/26589.

223. Salim, S. Oxidative stress and psychological disorders / S. Salim // *Curr. Neuropharmacol.* - 2014. - V. 12. - N.2. - P. 140–147. doi: 10.2174/1570159X11666131120230309
224. Salim, S. Oxidative stress and the central nervous system / S. Salim // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 2017. - V. 360. - N. 1. - P. 201-205. doi: 10.1124/jpet.116.237503
225. Sampaio, L. d. F. S. The melatonin analog 5-MCA-NAT increases endogenous dopamine levels by binding NRH:quinone reductase enzyme in the developing chick retina / L. d. F. S. Sampaio, F. P. Mesquita, P. R. Monteiro de Sousa et al.] // *Int. J. Dev. Neurosci.* - 2014. - V. 38. - P. 119-26. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2014.09.001
226. Sansalone, L. Photopotential of the GABA_A receptor with caged diazepam / L. Sansalone, J. Bratsch-Prince, S. Tang [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U SA.* - 2019. - V. 116. - N. 42. - P. 21176-21184. doi: 10.1073/pnas.1902383116.
227. Sarnowska, A. Diazepam neuroprotection in excitotoxic and oxidative stress involves a mitochondrial mechanism additional to the GABA_A and hypothermic effects / A. Sarnowska, M. Beresewicz, B. Zabłocka [et al.] // *Neurochem. Int.* - 2009. - V. 55. - N. 1-3. - P. 164-73. doi: 10.1016/j.neuint.2009.01.024.
228. Savage, R. A. Melatonin / R. A. Savage, N. Zafar, S. Yohannan [et al.] // *Stat. Pearls. Publishing.* - 2021.
229. Scott, F. F. Electrophysiological effects of melatonin on mouse Per1 and non-Per1 suprachiasmatic nuclei neurones in vitro / F. F. Scott, M. D. Belle, P. Delagrè [et al.] // *J. Neuroendocrinol.* - 2010. - V. 22. - P. 1148-1156.
230. Sener, G. Melatonin protects against mercury (II)-induced oxidative tissue damage in rats / G. Sener, A. O. Sehirli, G. Ayanoglu-Dulger // *Pharmacol. Toxicol.* - 2003. - V. 93. - N. 6. - P. 290-296.
231. Shafiee, M. Depression and anxiety symptoms are associated with prooxidant-antioxidant balance: A population-based study / M. Shafiee, M. Ahmadnezhad, M. Tayefi [et al.] // *J. Affect. Disord.* - 2018. - V. 238. - P. 491-498. doi: 10.1016/j.jad.2018.05.079.

232. Shah, S. M. A. Prevalence, psychological responses and associated correlates of depression, anxiety and stress in a global population, during the coronavirus disease (COVID-19) pandemic / S. M. A. Shah, D. Mohammad, M. F. H. Qureshi [et al.] // *Community Ment Health J.* - 2021. - V. 57. - №1. - P.101-110. doi: 10.1007/s10597-020-00728-y.
233. Shahzad, N. Interactions of atenolol with alprazolam/escitalopram on anxiety, depression and oxidative stress / N. Shahzad, J. Ahmad, W. Khan [et al.] // *Pharmacol. Biochem. Behav.* - 2014. - V. 117. - P. 79-84. doi: 10.1016/j.pbb.2013.12.015.
234. Shin, D. J. Receptors involved in the antinociception of intrathecal melatonin in formalin test of rats / D. J. Shin, C. W. Jeong, S. H. Lee [et al.] // *Neurosci. Lett.* - 2011. - V. 494. - N. 3. - P.207-210. doi: 10.1016/j.neulet.2011.03.014.
235. Signorelli, M. S. Venlafaxine augmentation with agomelatine in a patient with obsessive-compulsive disorder and suicidal behaviors / M. S. Signorelli, C. Concerto, E. Battaglia [et al.] // *Sage. Open. Med. Case. Rep.* - 2014. - V. 2. - P. 2050313X14561778. doi: 10.1177/2050313X14561778.
236. Silva, A.I. Fluoxetine treatment of rat neonates significantly reduces oxidative stress in the hippocampus and in behavioral indicators of anxiety later in postnatal life / A. I. Silva, L. C. M. Galindo, L. Nascimento [et al.] // *Can. J. Physiol. Pharmacol.* - 2014. - V. 92. - N. 4. - P. 330-7. doi: 10.1139/cjpp-2013-0321.
237. Silva, V.M. Quality of sleep and anxiety are related to circadian preference in university students / V. M. Silva, J. E.d. M. Magalhaes, L. L. Duarte // *P. Los. One.* - 2020. - V. 15. - N. 9. - P. 0238514. doi: 10.1371/journal.pone.0238514.
238. Simon Padilla, O.J. Use of combined treatment with melatonin and clomethiazole in circadian rhythm sleep disorder in the elderly with dementia / O. J. Simon Padilla, C. De Linares Del Rio, P. Godden [et al.] // *Rev. Esp. Geriatr. Gerontol.* - 2009. - V. 44. - N. 4. - P. 233-4.
239. Smaga, I. Oxidative stress as an etiological factor and a potential treatment target of psychiatric disorders. Part 2. Depression, anxiety, schizophrenia and autism / I.

- Smaga, E. Niedzielska, M. Gawlik [et al.] // *Pharmacol. Rep.* – 2015. – V. 67. – N. 3. – P. 569-80. doi: 10.1016/j.pharep.2014.12.015.
240. Sokkary, G. H. E. Melatonin and vitamin C administration ameliorate diazepam-induced oxidative stress and cell proliferation in the liver of rats / G. H. E. Sokkary // *Cell. Prolif.* - 2008. – V. 41. – N.1. – P. 168-76. doi: 10.1111/j.1365-2184.2007.00503.x.
241. Solanki, N. Modulating oxidative stress relieves stress-induced behavioral and cognitive impairments in rats / N. Solanki, A. Salvi, G. Patki [et al.] // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* - 2017. – V. 20. – N. 7. – P. 550-561. doi: 10.1093/ijnp/pyx017.
242. Souza, L.C. Agomelatine's effect on circadian locomotor rhythm alteration and depressive-like behavior in 6-OHDA lesioned rats / L. C. Souza, B. J. Martynhak, T. B. Bassani [et al.] // *Physiol. Behav.* – 2018. – V. 188. – P.298-310. doi: 10.1016/j.physbeh.2018.02.033.
243. Spaas, J. Oxidative stress and impaired oligodendrocyte precursor cell differentiation in neurological disorders / J. Spaas, L. v. Veggel, M. Schepers [et al.] // *Cell. Mol. Life. Sci.* – 2021. doi: 10.1007/s00018-021-03802-0.
244. Spulber, S. Desipramine restores the alterations in circadian entrainment induced by prenatal exposure to glucocorticoids / S. Spulber, M. Conti, F. Elberling [et al.] // *Transl. Psychiatry.* - 2019. – V. 9. – N. 1. – P. 263. doi: 10.1038/s41398-019-0594-3.
245. Stein, R. M. Virtual discovery of melatonin receptor ligands to modulate circadian rhythms / R.M. Stein, H.J. Kang, J.D. McCorvy [et al.] // *Nature.* – 2020. – V. 579. – P. 609-614.
246. Stuhec, M. Moclobemide as add-on therapy to agomelatine in a patient with treatment-resistant major depressive disorder: a psychopharmacological case / M. Stuhec, R. Oravec // *Wien. Klin. Wochenschr.* - 2016. - V.128. - N.7-8. – P. 295-8. doi: 10.1007/s00508-015-0861-0.
247. Sugden D. J. Psychopharmacological effects of melatonin in mouse and rat / D. J. Sugden // *Pharmacol. Exp. Ther.* - 1983. – V. 227. - № 3. – P. 587-91.

248. Sühs, K. W. Combination of agomelatine and bupropion for treatment-resistant depression: results from a chart review study including a matched control group / K.-W. Sühs, C. Correll, C. K. Eberlein [et al.] // *Brain. Behav.* - 2015. - V. 5. – N. 4. – P. e00318. doi: 10.1002/brb3.318.
249. Sun, Y. Serotonin 2A receptor polymorphism rs3803189 mediated by dynamics of default mode network: a potential biomarker for antidepressant early response / Y. Sun, S. Tao, S. Tian et al. // *J. Affect. Disord.* – 2021. – V. 283. – P. 130-138. doi: 10.1016/j.jad.2021.01.047.
250. Takeuchi, K. Serotonin-2C receptor involved serotonin-induced Ca^{2+} mobilisations in neuronal progenitors and neurons in rat suprachiasmatic nucleus / K. Takeuchi, S. Mohammad, T. Ozaki [et al.] // *Sci. Rep.* – 2014. – V.4. – P.4106. doi: 10.1038/srep04106.
251. Tan, D. X. Pineal calcification, melatonin production, aging, associated health consequences and rejuvenation of the pineal gland / D. X. Tan, B. Xu, X. Zhou [et al.] // *Molecules.* – 2018. – V. 23. – N. 2. – P. 301. doi: 10.3390/molecules23020301
252. Tang, Y-Q. Venlafaxine plus melatonin ameliorate reserpine-induced depression-like behavior in zebrafish / Y.-Q. Tang, Z.-R. Li, S.-Z. Zhang [et al.] // *Neurotoxicol. Teratol.* - 2019. – V. 76. – P. 106835. doi: 10.1016/j.ntt.2019.106835.
253. Targum, S. D. Changes in cognitive symptoms after a buspirone-melatonin combination treatment for major depressive disorder / S. D. Targum, P. C. Wedel, M. Fava [et al.] // *J. Psychiatr. Res.* – 2015. – V. 68. – P.392-6. doi: 10.1016/j.jpsychires.2015.04.024.
254. Touitou, Y. Adolescent social anxiety and clock disruption. A commentary / Y. Touitou, D. Touitou, A. Reinberg // *J. Affect Disord.* - 2020. – V. 269. – P. 194-195. doi: 10.1016/j.jad.2020.01.148.
255. Tour, A. C. Should melatonin be used as an alternative sedative and anxiolytic agent in mandibular third molar surgery? / A.C. Tour, E. Yuceer // *J. Oral Maxillofac. Surg.* – 2019. – V. 77. – N. 9. – P. 1790-1795.

256. Trincavelli, M. L. The GABAA-BZR complex as target for the development of anxiolytic drugs / M. L. Trincavelli, E. Da Pozzo, S. Daniele [et al.] // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2012. – V. 12. – N. 4. – P. 254-69. doi: 10.2174/1568026799078787.
257. Valdés-Tovar, M. Circadian modulation of neuroplasticity by melatonin: a target in the treatment of depression / M. Valdés-Tovar, R. Estrada-Reyes, H. Solís-Chagoyán [et al.] // *Br. J. Pharmacol.* – 2018. – V.175. – N.16. – P. 3200-3208. doi: 10.1111/bph.14197.
258. Varinthra, P. Molecular basis for the association between depression and circadian rhythm / P. Varinthra, I. Y. Liu // *Ci Ji. Yi. Xue Za Zhi.* – 2019. - V. 31. – N. 2. – P. 67-72. doi: 10.4103/tcmj.tcmj_181_18.
259. Vlachou, M. Pineal hormone melatonin as an adjuvant treatment for COVID-19 (Review) / M. Vlachou, A. Siamidi, A. Dedeloudi [et al.] // *Int. J. Mol. Med.* - 2021. - V. 47. – N. 4. – P. 47. doi: 10.3892/ijmm.2021.4880.
260. Wang, X-L. Regulation of circadian genes by the MAPK pathway: implications for rapid antidepressant action / X -L. Wang, K. Yuan, W. Zhang [et al.] // *Neurosci Bull.* – 2020. – V. 36. – N.1. – P. 66-76. doi: 10.1007/s12264-019-00358-9.
261. Welhelmsen, M. Anxiolytical, analgesic and sedative effects of melatonin in the perioperative phase / M. Welhelmsen, J. Rosenberg, I. Gogenur // *Ugeskr. Laeger.* – 2011. – V. 173. – N. 20. – P.1424-1427.
262. Westrich, L. The effects of combining serotonin reuptake inhibition and 5-HT7 receptor blockade on circadian rhythm regulation in rodents / L. Westrich, J. Sprouse, C. Sánchez // *Physiol. Behav.* – 2013. – V. 110-111. - P.42-50. doi: 10.1016/j.physbeh.2012.12.009.
263. Wetterberg L. Melatonin and clinical application / L. Wetterberg // *Reprod. Nutr. Dev.* 1999. – V. 39. –N. 3. – P. 367-82. doi: 10.1051/rnd:19990309.
264. Whitton, A. E. Baseline reward processing and ventrostriatal dopamine function are associated with pramipexole response in depression / A.E. Whitton, J. M. Reinen, M. Slifstein [at al.] // *Brain.* – 2020. – V. 143.- N. 2.- P. 701-710. doi: 10.1093/brain/awaa002.

265. Williams, L. M. Diazepam is not a direct allosteric modulator of α_1 -adrenoceptors, but modulates receptor signaling by inhibiting phosphodiesterase-4 / L. M. Williams, X. He, T. M. Vaid [et al.] // *Pharmacol. Res. Perspect.* - 2018. – V. 7. – N. 1. – P. e00455. doi: 10.1002/prp2.455.
266. Wirz-Justice, A. Biological Rhythmen und Depression/A. Wirz-Justice // *Schw. Arch. Neurol. Psychiat.* – 1986. – V.137 – N. 5. – P. 87-96.
267. Wittmann, M. Circadian rhythms and depression / M. Wittmann, W. Schreiber, M. Landgrebe [et al.] // *Fortschr. Neurol. Psychiatr.* - 2018. – V. 86. – N. 5. – P. 308-318. doi: 10.1055/s-0043-123069.
268. Workman, J. L. Maternal pinealectomy increases depressive-like responses in Siberian hamster offspring / J. L. Workman, Z. M. Weil, C. R. Tuthill [et al.] // *Behav. Brain. Res.* – 2008. – V. 189. – N. 2. – P.387-91. doi: 10.1016/j.bbr.2008.01.016.
269. Wu, J. Melatonin and regulation of autophagy: Mechanisms and therapeutic implications / J. Wu, Y. Bai, Y. Wang [et al.] // *Pharmacol. Res.* – 2021. - V. 163. – P. 105279. doi: 10.1016/j.phrs.2020.105279.
270. Xia, Z. A review of sleep disorders and melatonin / Z. Xia, F. Chen, W.A. Li [et al.] // *Neurol. Res.* – 2017. – V. 39. – N. 6. – P. 556-565.
271. Yao, X.-W. The efficacy and safety of agomelatine, sertraline, and escitalopram for senile post-stroke depression: A randomized double-blind placebo-controlled trial / X.-W. Yao, Y.-L. Li, Z.-J. Yu [et al.] // *Clin. Neurol. Neurosurg.* - 2021. – V. 205. – P. 106651. doi: 10.1016/j.clineuro.2021.106651.
272. Yaoita, F. Involvement of the hippocampal alpha2A-adrenoceptors in anxiety-related behaviors elicited by Intermittent REM sleep deprivation-induced stress in mice / F. Yaoita, K. Namura, K. Shibata [et al.] // *Biol. Pharm. Bull.* – 2020. – V. 43. – N. 8. – P. 1226-1234. doi: 10.1248/bpb.b20-00255.
273. Yildiz, G. A. Effect of diazepam, sertraline and melatonin on the stress-induced reproductive disorders and intrauterine growth restriction in female rats / G. A. Yildiz1, D. Yildiz, O. E. Yapca [et al.] // *J. Matern Fetal. Neonatal. Med.* – 2021. - V. 34. – N. 24. – P. 4103-4109. doi: 10.1080/14767058.2019.1706469.

274. Yuan, M. Effects of environmental stress on the depression-like behaviors and the diurnal rhythm of corticosterone and melatonin in male rats / M. Yuan, L.J. Liu, L.Z. Xu // *Sheng. Li. Xue. Bao.* – 2016.– V. 68.–N. 3.– P. 215-23.
275. Zalachoras, I. Therapeutic potential of glutathione-enhancers in stress-related psychopathologies / I. Zalachoras, F. Hollis, E. Ramos-Fernández [et al.] // *Neurosci. Biobehav. Rev.* - 2020. - V. 114. - P. 134-155. doi: 10.1016/j.neubiorev.2020.03.015.
276. Zhang, L. Melatonin prevents sleep deprivation-associated anxiety-like behavior in rats: role of oxidative stress and balance between GABAergic and glutamatergic transmission / L. Zhang, H.-L. Guo, H.-Q. Zhang [et al.] // *Am. J. Transl. Res.* - 2017. - V. 9. - N. 5. - P. 2231-2242.
277. Zhang, P. Oxidative stress and diabetes: antioxidative strategies / P. Zhang, T. Li, X. Wu, E. C. Nice [et al.] // *Front. Med.* – 2020. – V. 14. – N. 5. – P.583-600. doi: 10.1007/s11684-019-0729-1.
278. Zhang, X. Melatonin regulates mitochondrial dynamics and alleviates neuron damage in prion diseases / X. Zhang, D. Zhao, W. Wu [et al.] // *Aging (Albany NY).* – 2020. – V.12. – N.11. – P.11139-11151. doi: 10.18632/aging.103328.
279. Zhao, W. Pineal gland abnormality in major depressive disorder / W. Zhao, D. M. Zhu, Y. Zhang [et al.] // *Psychiatry. Res. Neuroimaging.* - 2019. – V. 289. – P. 13-17.
280. Zhao, Y. Effects of chronic stress depression the circadian rhythm of peripheral neuroendocrine hormone of rats / Y. Zhao, Y. Fu // *Zhongguo. Ying Sheng. Li Xue Za Zhi.* – 2017. – V. 33. – N. 5. - P. 398-402.
281. Zhou, B. Melatonin increases the sensitivity of hepatocellular carcinoma to sorafenib through the PERK-ATF4-Beclin 1 pathway / B. Zhou, Q. Lu, J. Liu [et al.] // *Int. J. Biol. Sci.* – 2019. – V. 15. – N. 9. – P. 1905-1920.
282. Zisapel, N. New perspectives on the role of melatonin in human sleep, circadian rhythms and their regulation / N. Zisapel // *Br. J. Pharmacol.* - 2018. – V. 175. – N. 16. – P. 3190-3199.

283. Zizhen, X. A review of sleep disorders and melatonin / X. Zizhen, C. Fei, A. L. William [et al.] // *Neuro. Res.* – 2017. - V.39. – N. 6. – P.559-565. doi: 10.1080/01616412.2017.1315864.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность:

Заведующему кафедрой фармакологии СтГМУ, заслуженному деятелю науки Р.Ф., д.м.н., профессору Эдуарду Бениаминовичу Арушаняну за неоценимый вклад в развитие научного мышления автора, за помощь и реализацию исследовательской деятельности.

Д.м.н., научному руководителю Эдуарду Владимировичу Бейеру за бесценную помощь в обсуждении научных результатов, в выборе направления исследования, подготовке научных публикаций, поддержку и терпение при подготовке к защите.