

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
ОРИГИНАЛЬНЫХ И ПЕРСПЕКТИВНЫХ БИОМЕДИЦИНСКИХ И
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ»

На правах рукописи

Скрипкина Дарья Викторовна

**Физиологические показатели у крыс после хронического непредсказуемого
мягкого стресса разной длительности**

1.5.5. Физиология человека и животных

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор,
член-корреспондент РАН,
Заслуженный деятель науки РФ
Перцов Сергей Сергеевич

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	18
1.1. Общая физиология стресса.....	18
1.1.1. Классические и современные представления о стрессе.....	18
1.1.2. Этиопатогенез острого и хронического стресса	23
1.2. Иммунные процессы в формировании стрессорных реакций.....	27
1.2.1. Система комплемента как фактор гуморальной иммунной регуляции в механизмах стресса	27
1.2.2. Цитокины как факторы нейроиммунной регуляции в механизмах стресса	30
1.3. Эндокринология стресса.....	34
1.3.1. Нейроэндокринные изменения в условиях стресса.....	34
1.3.2. Обмен глюкозы у животных в условиях стресса.....	40
1.3.3. Изменения массы тела у животных в условиях стресса	43
1.4. Ноцицептивная чувствительность у животных в условиях стресса.....	45
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	51
2.1. Условия содержания крыс.....	51
2.2. Экспериментальная модель стрессорного воздействия	52
2.3. Дизайн эксперимента.....	53
2.4. Определение массы тела крыс	55
2.5. Определение ноцицептивной чувствительности животных.....	55
2.5.1. Анализ перцептуального компонента ноцицепции	56
2.5.2. Анализ эмоционального компонента ноцицепции	56
2.6. Определение концентрации глюкозы в крови крыс	57
2.7. Получение сыворотки крови.....	57
2.8. Определение концентрации кортикостерона в сыворотке крови крыс.....	58
2.9. Определение концентрации цитокинов в сыворотке крови крыс.....	59

2.10. Определение функциональной активности системы комплемента крови у крыс.....	60
2.11. Статистическая обработка данных.....	60
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	62
3.1. Концентрация кортикостерона в сыворотке крови крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности.....	63
3.2. Масса тела крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности	65
3.3. Уровень глюкозы в крови крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности.....	68
3.4. Концентрация цитокинов в сыворотке крови крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности.....	70
3.5. Функциональная активность системы комплемента в сыворотке крови крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности.....	72
3.6. Ноцицептивная чувствительность у крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности.....	74
3.7. Корреляционный анализ показателей ноцицепции, массы тела, уровня глюкозы, функциональной активности системы комплемента, концентрации цитокинов и кортикостерона в крови у крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности.....	77
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	85
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	102
ВЫВОДЫ.....	104
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	106
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	107

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Все млекопитающие, в том числе, люди неизменно испытывают воздействие многообразных стрессогенных факторов. Стрессорные нагрузки сопровождаются изменением функционирования разных систем организма, что часто приводит к нарушению физического и психического здоровья. В связи с этим, одним из наиболее перспективных и актуальных направлений исследований в медико-биологической науке является изучение тонких физиологических механизмов, лежащих в основе реализации стресс-ответа у млекопитающих в условиях экстремальных воздействий.

Академиком К.В. Судаковым (2012) отмечено, что в условиях длительных стрессорных нагрузок происходит дезинтеграция взаимодействия функциональных систем гомеостатического уровня. Впоследствии нарушение механизмов саморегуляции наиболее ослабленных функциональных систем может проявляться в стойком отклонении соответствующих функций и привести к сердечно-сосудистым, эндокринным, иммунным и другим заболеваниям. Одно из основных условий успешной борьбы организма со стресс-фактором – первоначальное повышение функциональной активности физиологических систем организма в соответствующих условиях с обязательным восстановлением её до нормального уровня по окончании экстремального воздействия. В случае нарушения указанного равновесия изменения интенсивности физиологических процессов могут сопровождаться формированием многих стресс-индуцированных расстройств: гипертонии [8, 87, 196], инсульта [135], диабета [81, 107, 133], ожирения [139], аутоиммунных и воспалительных болезней [150, 198], онкологических заболеваний [126], депрессии [157] и других.

Необходимо подчеркнуть, что чувствительность млекопитающих к развитию отрицательных последствий воздействия повреждающих факторов внешней среды

определяется соотношением активностей стресс-реализующей и стресс-лимитирующей систем. Стрессоустойчивость, степень реакции на стресс – главный критерий адаптивности и жизнеспособности людей и животных в экстремальных ситуациях. В настоящее время описаны некоторые нейрогуморальные механизмы, лежащие в основе смещения баланса между данными системами в условиях как острого, так и хронического стресса [91, 153, 182, 225].

Важную роль в развитии ответа организма на действие стрессогенных факторов играют две стресс-реализующие нейроэндокринные системы – симпатoadреналовая система и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковый комплекс (ГГН-комплекс). В ряде экспериментальных исследований изучен характер колебаний уровня одного из классических стресс-гормонов – кортикостерона – в крови животных [21, 152, 221]. Длительный адаптивный ответ при хроническом стрессе приводит к повышенной активации ГГН-комплекса, что связано с усилением секреции кортиколиберина в гипоталамусе и, соответственно, интенсивным выделением АКТГ из гипофиза и кортикостерона из коры надпочечников [47]. Выброс кортикостерона регулируется по принципу отрицательной обратной связи: циркулирующие глюкокортикоиды подавляют секрецию кортиколиберина и АКТГ в указанных выше структурах головного мозга, а также усиливают функциональную активность клеток гиппокампа, который, в свою очередь, обладает ингибирующим влиянием на ГГН-систему [13, 15, 110]. Физиологические системы, обеспечивающие отрицательную обратную связь, называются стресс-лимитирующими [18, 19]. Важно, что гиперактивация стресс-реализующих систем организма в состоянии хронического стресса (длительного, многократного повторяющегося) приводит к устойчивому росту содержания кортикостерона, а также к нарушению механизмов регуляции по принципу отрицательной обратной связи со стороны глюкокортикоидных гормонов. Эта начальная адаптивная гиперкортизолемическая фаза может перейти во вторичное, компенсаторное и самоподдерживающееся подавление активности ГГН-комплекса со снижением выработки кортизола по принципу отрицательной обратной связи

[47].

В контексте адаптивной реакции организма на стрессорные воздействия как глюкокортикоидные гормоны, так и катехоламины оказывают преимущественно катаболическое действие, что определяет мобилизацию доступных энергетических ресурсов [15, 212]. К настоящему времени установлен широкий спектр метаболических изменений в организме млекопитающих, происходящих при стрессовых нагрузках. В условиях длительного стресса нередко наблюдаются увеличение массы тела, нарушения метаболизма жиров и углеводов, развитие висцерального ожирения, что, в частности, связано с длительным выбросом глюкокортикоидных гормонов и нейропептида-γ [95, 108, 173]. Хронические стрессорные воздействия значительно повышают риск развития метаболического синдрома, диабета 2-го типа, гипертонической болезни, сердечно-сосудистых заболеваний [78, 89, 133]. Установлено, что регуляторные механизмы обмена углеводов и особенности метаболизма глюкозы у млекопитающих при хроническом стрессе значительно различаются в зависимости от вида и длительности влияния стрессогенного фактора, а также периода наблюдений [152, 156, 165, 205].

В настоящее время имеются убедительные доказательства изменений болевой чувствительности при стрессорных нагрузках. Характер влияния эмоциогенных воздействий на различные показатели ноцицепции во многом неоднозначен. В условиях стресса болевая реакция на физические или психологические раздражители может как усиливаться, так и снижаться, что зависит преимущественно от вида, интенсивности и продолжительности действия стрессогенного фактора [59, 158]. Во многих работах показана возможность развития как стресс-аналгезии, так и гипералгезии [5, 50, 59, 163]. Большинство исследователей сходятся во мнении о том, что продолжительные стрессорные воздействия могут приводить к формированию хронической боли [46, 85, 127, 210].

Большую роль в реализации адаптационно-компенсаторных процессов у млекопитающих в условиях стресса играет иммунная система. На сегодняшний день имеется множество научных данных, указывающих на дисрегуляцию

различных компонентов иммунной системы при длительных стрессорных воздействиях [62, 69, 80, 188, 214]. В этом плане большое внимание уделяется анализу вовлечения системы комплемента крови [70], цитокинов [37] и других иммунных веществ в организацию стресс-реакций. Особенностью системы комплемента и ряда цитокинов, выявленной относительно недавно, является их влияние на структурно-функциональные характеристики клеток ЦНС. Обнаружено, что комплемент оказывает модулирующее действие на нейрогенез, миграцию и реструктуризацию синапсов, а также на синаптические процессы пластичности, лежащие в основе обучения и памяти во взрослом мозге [204, 216, 217]. Показано, что снижение уровня интерлейкина-4 (ИЛ-4) способствует проявлению депрессивно-подобного поведения за счет подавления активности переносчика серотонина в микроглиальных клетках [200, 215]. ИЛ-10 вовлечен в регуляцию циркадных ритмов у млекопитающих, подавляя выработку просомногенных медиаторов, таких как фактор некроза опухоли (ФНО) и ИЛ-1, и увеличивая продукцию антисомногенных веществ [228]. Указанные факторы во многом определяют поведенческие и другие реакции в условиях стресса [27, 28].

Необходимо подчеркнуть, что последствия стрессорных нагрузок, в том числе, степень иммунной дисфункции, индивидуальны и во многом зависят от характера, длительности и силы воздействия. Доказательством данного факта являются, в частности, стресс-индуцированные изменения цитокинового профиля крови, обнаруженные в ряде предыдущих работ [25, 31, 100].

Таким образом, стресс-индуцированные изменения физиологических функций значительно различаются в зависимости от вида, продолжительности и частоты предъявления стрессогенного фактора, а также от индивидуальной устойчивости или предрасположенности к развитию дисрегуляторной патологии при экстремальных воздействиях.

Приведенные факты указывают на актуальность дальнейшего изучения нейрогуморальных, метаболических и иммунных механизмов, лежащих в основе изменений системной организации физиологических функций у млекопитающих в

условиях хронического стресса.

Степень разработанности темы

Несмотря на высокую научную актуальность и социальную значимость изучения тонких механизмов, опосредующих изменения физиологических функций у млекопитающих в состоянии стресса, многие вопросы в этой области остаются нерешенными. В научной литературе недостаточно сведений об особенностях иммунных и гормональных показателей, а также параметров метаболизма при хронических стрессорных нагрузках разной длительности. Мало исследованы изменения болевой чувствительности после многократно повторяющихся воздействий различных стресс-факторов. Не определено наличие возможных взаимосвязей между перечисленными физиологическими показателями в условиях переменной стрессогенности. Представленная работа посвящена решению данных вопросов.

Цель исследования

Изучение особенностей показателей ноцицепции, эндокринных и иммунных функций, а также обменных процессов у крыс после многократных чередующихся стрессорных воздействий разной длительности.

Задачи исследования

1. Изучить характер изменений концентрации кортикостерона в крови крыс через 1, 2, 3 и 4 недели стрессорных нагрузок на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса.

2. Оценить изменения массы тела крыс через 1, 2, 3 и 4 недели стрессорных

нагрузок на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса.

3. Проанализировать изменения уровня глюкозы в крови крыс через 1, 2, 3 и 4 недели стрессорных нагрузок на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса.

4. Исследовать некоторые показатели цитокинового профиля крови у крыс – концентрацию ИЛ-4 и ИЛ-10 – через 1, 2, 3 и 4 недели стрессорных нагрузок на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса.

5. Определить функциональную активность системы комплемента крови у крыс через 1, 2, 3 и 4 недели стрессорных нагрузок на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса.

6. Оценить показатели ноцицептивной чувствительности крыс через 1, 2, 3 и 4 недели стрессорных нагрузок на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса

7. Выявить возможные взаимосвязи между изученными физиологическими показателями у крыс через 1, 2, 3 и 4 недели стрессорных нагрузок на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса.

Новизна исследования

В диссертационном исследовании впервые выявлены особенности изменений эндокринных функций у животных в разные временные периоды многократного предъявления чередующихся стресс-факторов. Установлено, что хронический непредсказуемый мягкий стресс сопровождается снижением уровня кортикостерона в крови к окончанию 1-й и 2-й недель наблюдений с последующим его восстановлением через 3 и 4 недели воздействий.

Получены новые данные о специфике показателей обменных процессов у крыс – массы тела и содержания глюкозы в крови – в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса. Показано, что животные, подвергнутые многократным чередующимся стрессорным нагрузкам в течение 1 недели,

характеризуются отсутствием наблюдающегося в норме увеличения массы тела. В следующие временные периоды темпы роста крыс ниже, а после 3-й недели стрессорных воздействий масса их тела меньше по сравнению с контролем. Установлено, что моделирование хронического непредсказуемого мягкого стресса у животных приводит к увеличению уровня глюкозы к окончанию 2-й недели, но не через 1, 3 или 4 недели после начала наблюдений.

Обнаружены особенности изменений некоторых иммунных параметров – цитокинового профиля и функциональной активности системы комплемента крови – у крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности. При этом выявлено снижение уровня ИЛ-4 во все периоды исследования, статистически значимо – к окончанию 2-й и 4-й недель многократных стрессорных нагрузок. Концентрация ИЛ-10 демонстрирует тенденцию к росту уже после 1-й недели стрессорных воздействий, выражено превышая данный показатель у интактных особей через 2, 3 и 4 недели после начала наблюдений. Показано, что процент лизиса эритроцитов, как показатель функциональной активности системы комплемента крови, возрастает через 2 недели ежедневных чередующихся стрессорных нагрузок, но впоследствии уменьшается и практически не отличается от контроля к окончанию 3-й и 4-й недель моделирования состояния хронического стресса.

Продемонстрирована специфика показателей различных компонентов болевой чувствительности при многократных стрессорных нагрузках разной длительности. Показано, что хронический непредсказуемый мягкий стресс у крыс сопровождается усилением эмоционального компонента ноцицепции по сравнению с исходным значением через 1 неделю, но не по окончании 2-й, 3-й и 4-й недель воздействий. В указанных экспериментальных условиях перцептуальный компонент ноцицептивной чувствительности не изменяется.

Ежедневные чередующиеся стрессорные нагрузки у животных приводят к появлению отсутствующих в норме корреляций между показателями ноцицепции, эндокринных и иммунных процессов, а также обмена веществ, характер которых

зависит от длительности воздействий. Полученные данные иллюстрируют дисрегуляцию физиологических функций в ранние периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса с дальнейшей реализацией адаптивных процессов и тесного межсистемного взаимодействия на поздних сроках многократных предъявлений различных стрессогенных факторов.

Теоретическая и практическая значимость работы

Полученные в ходе диссертационного исследования данные могут быть использованы как в научно-исследовательской работе, так и в клинической практике. Теоретическое значение работы определяется расширением знаний о физиологических механизмах, лежащих в основе формирования негативных последствий хронического стресса у млекопитающих. Доказано, что характер изменений показателей ноцицепции, а также иммунных, эндокринных и метаболических параметров зависит от длительности стрессорных нагрузок. Представлены новые факты, иллюстрирующие особенности стресс-реакции организма на определенных временных стадиях многократного воздействия чередующихся стрессогенных факторов.

Результаты проведенной экспериментальной работы, включающей в себя комплексный анализ различных физиологических показателей, перспективны для дальнейшего изучения этиопатогенетических механизмов формирования стресс-индуцированных расстройств. Представленные данные могут найти применение в ходе разработки новых подходов к коррекции и/или профилактике эндокринных, иммунных и метаболических нарушений, болевых синдромов при стрессовых нагрузках в изменяющихся условиях внешней среды. Материалы исследования целесообразно использовать в курсе преподавания нормальной физиологии, патологической физиологии, эндокринологии и иммунологии.

Изучаемые явления

1. Системная организация физиологических функций в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности.

2. Концентрация кортикостерона в сыворотке крови крыс, как один из эндокринных показателей, в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности.

3. Метаболические параметры – масса тела и уровень глюкозы в крови – у крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности.

4. Показатели иммунных функций – концентрация ИЛ-4 и ИЛ-10, функциональная активность системы комплемента крови – у крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности.

6. Перцептуальный и эмоциональный компоненты ноцицептивной чувствительности крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности.

Объект исследования

Эксперименты проведены на 50 крысах-самцах Вистар (масса тела $237,8 \pm 6,5$ г) в светлое время суток в осенне-зимний период.

Методология и методы исследования

Диссертационное исследование проведено на основе системного подхода к изучению специфики регуляции физиологических функций у млекопитающих в различных условиях жизнедеятельности [10; 38].

В процессе выполнения работы использовались следующие методы:

1. Стрессорная нагрузка на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса у крыс [17, 219] с модификациями. Экспериментальная модель предполагает последовательное ежедневное предъявление разнообразных низкоинтенсивных стрессоров в течение 7 дней. К используемым стрессогенным факторам относятся: наклон клетки 30° в течение 7 ч; дневное освещение (в вечернее, ночное и утреннее время) – 17 ч; загрязненная клетка (добавление 0,5 л воды в опилки) – 12 ч; питьевая депривация (удаление бутылки) – 12 ч; пустая бутылка – 12 ч; пищевая депривация (удаление корма) – 12 ч; тесная клетка ($300 \times 150 \times 150$ мм, 4 особи) – 12 ч; удаление опилок – 12 ч.

2. Измерение концентрации кортикостерона в сыворотке крови крыс – твердофазный иммуноферментный анализ; НТИ ImmunoChem-2100 (Microplate reader, США).

3. Определение массы тела крыс – ветеринарные весы для взвешивания грызунов (арт.9202.10; Soehnle Professional, Германия).

4. Исследование уровня глюкозы в крови крыс – глюкометрия; глюкометр, фирменные тест-полоски Contour TS (Bayer, Швейцария).

5. Измерение концентрации цитокинов в сыворотке крови крыс – твердофазный иммуноферментный анализ; НТИ ImmunoChem-2100 (Microplate reader, США).

6. Изучение функциональной активности системы комплемента крови у крыс – соответствующий скрининг-тест, реакция комплемент-зависимого лизиса эритроцитов человека [23]; фотометр для иммуноферментного анализа Maltiscan MCC (Labsystem, Финляндия).

7. Изучение ноцицептивной чувствительности крыс:
– анализ перцептуального компонента ноцицепции – по латентному периоду реакции отведения хвоста при свето-термальном раздражении методом «tail-flick» [75, 125], Tail-Flick Analgesia Meter 0104-301M (Columbus Instruments, США);
– анализ эмоционального компонента ноцицепции – по порогу вокализации в ответ

на электрокожное раздражение хвоста (Абрамов Ю.Б., Козлов А.Ю., 2005), электростимулятор SEN-3201 (Nihon Kohden, Япония).

8. Обработка полученных данных с применением соответствующих статистических и аналитических методов. Выявление взаимосвязей между оцениваемыми параметрами методом корреляционного анализа.

Анализ экспериментальных результатов

Числовые данные обрабатывали с применением пакетов программ Statistica 12.0 и Microsoft Office Excel 2021. Групповые выборки данных не подчинялись нормальному распределению (по критерию Шапиро-Уилка), для статистического анализа применены непараметрические критерии. При необходимости множественного межгруппового сравнения использовали дисперсионный анализ – критерий Фридмана для зависимых переменных, критерий Краскела-Уоллиса для независимых переменных. При наличии статистически значимых различий по указанным критериям применяли апостериорный попарный анализ межгрупповых различий показателей с помощью *T*-критерия Вилкоксона для зависимых переменных и *U*-критерия Манна-Уитни для независимых групп. Корреляционный анализ внутригрупповых связей между исследуемыми параметрами проводили с применением непараметрического коэффициента ранговой корреляции Спирмена.

Используемые средства

1. Ветеринарные весы для взвешивания грызунов (арт.9202.10; Soehnle Professional, Германия).

2. Установка Tail-Flick Analgesia Meter 0104-301M (Columbus Instruments, США) – нанесение свето-термального раздражения в ручном и автоматическом режимах при оценке латентного периода реакции отведения хвоста крыс (сек).

3. Электростимулятор SEN-3201 (Nihon Kohden, Япония) – нанесение

электро кожного раздражения при оценке порога вокализации крыс (мА).

4. Электродный контактный гель Униа гель (ООО «Гельтек-Медика», Россия) – нанесение на хвост крыс в область наложения электродов до подачи электро кожного раздражения.

5. Глюкометр, фирменные тест-полоски Contour TS (Bayer, Швейцария) – измерение концентрации глюкозы в крови крыс методом глюкометрии.

6. Пробирки типа Эппендорф (Диа-м) – сбор проб сыворотки крови.

7. Настольная лабораторная центрифуга MULTI CENTRIFUGE FUGE CM 6M (ELMI, Latvija) – центрифугирование проб крови крыс.

8. Прибор HTI ImmunoChem-2100 (Microplate reader; США) – твердофазный иммуноферментный анализ концентрации кортикостерона (реагенты ELISA; USCN-LIFE™, Китай) и цитокинов (реагенты АО «Вектор-Бест», Россия) в сыворотке периферической крови крыс.

7. Фотометр Maltiscan MCC (Labsystem, Финляндия) – определение функциональной активности системы комплемента в сыворотке крови крыс путем реакции комплемент-зависимого лизиса эритроцитов человека с соответствующими наборами реагентов.

8. Лицензионные пакеты статистических программ Statistica 12.0 (StatSoft, Inc.) и Microsoft Office Excel 2021.

Положения, выносимые на защиту

1. Многократные воздействия разных стрессогенных факторов у крыс оказывают специфическое влияние на ноцицептивную чувствительность, показатели эндокринных и иммунных функций, метаболические параметры.

2. Характер изменений анализируемых физиологических показателей у крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса различается в зависимости от продолжительности стрессорных воздействий.

3. Изменения регуляции ряда физиологических функций наблюдаются в

ранние периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса, тогда как реализация адаптивных процессов и тесного межсистемного взаимодействия происходит на поздних сроках повторяющихся стрессорных воздействий.

Степень достоверности результатов исследования

Достоверность результатов диссертационной работы подтверждается достаточным числом экспериментальных крыс, применением адекватных современных методов и подходов, которые соответствуют поставленной цели и задачам исследования. Научные положения и выводы, сделанные на основе представленных результатов, подкреплены убедительными фактическими данными, которые наглядно проиллюстрированы в таблицах и на рисунках. Обработка результатов выполнена с помощью современных средств и методов обработки информации, статистического анализа данных.

Апробация результатов исследования

Основные научные положения и выводы диссертационного исследования представлены на следующих научных мероприятиях: XIX Международный междисциплинарный конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2023); XXVII Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2024); Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2024» (Москва, 2024); II Межинститутский научный семинар молодых учёных и специалистов по биомедицине (Москва, 2024); конференции лаборатории системных механизмов эмоционального стресса и боли ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (Москва, 2023-2024);

Всероссийская научно-практическая конференция «Научное наследие академика И.П. Павлова и современная наука», посвященная 175-летию со дня рождения академика И.П. Павлова и 120-летию присуждения ему Нобелевской премии (Рязань, 2024); XXII Конференция молодых ученых, специалистов и студентов, посвященная 300-летию Российской академии наук (Москва, 2024); Конференция с международным участием «Системный подход в медицине и образовании», посвященная Научной школе выдающегося физиолога академика П.К. Анохина (Москва, 2024).

Публикации

По материалам диссертационной работы опубликовано 8 научных работ, отражающих основное содержание исследований: из них 3 статьи в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России для публикации результатов диссертационных исследований.

Структура и объем работы

Диссертационная работа включает в себя следующие разделы: «Введение», «Обзор литературы», «Материалы и методы исследования», «Результаты исследования», «Обсуждение результатов», «Выводы», «Список сокращений», «Список литературы». Список литературы содержит 234 источника, из них 45 отечественных и 189 зарубежных. Диссертация изложена на 135 страницах печатного текста, иллюстрирована 15 таблицами и 8 рисунками.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Общая физиология стресса

Все живые организмы неизменно испытывают воздействие различных стрессогенных факторов. Стрессорные нагрузки сопровождаются изменением функционирования различных систем организма, что часто может приводить к нарушению физического и психического здоровья. В связи с этим, одним из наиболее перспективных и актуальных направлений исследований в медико-биологической науке является изучение тонких физиологических механизмов, лежащих в основе реализации стресс-ответа у млекопитающих в условиях экстремальных воздействий.

1.1.1. Классические и современные представления о стрессе

Первое упоминание термина «стресс», используемого для описания комплекса внешних и внутренних реакций организма при отрицательных воздействиях, появляется в «Статистическом отчете Ирландии» (1814-1819) Уильяма Шоу Мэйсона. Он указывал, что «бедняки, особенно женщины, умирают в молодости от того, что они называют «стрессами», то есть сильным жаром от тяжелой работы». Однако систематические исследования подобных фактов, не проводились вплоть до конца XIX века [178].

Американский психофизиолог W.B. Cannon в 1915 г. охарактеризовал изменения активности симпатoadреналовой системы при воздействии стрессорных факторов. Именно он ввел определение понятия «стресс», как угрозы гомеостазу организма [67].

Общепризнанная фундаментальная теория о стрессе была разработана в трудах канадского нейроэндокринолога Hans Hugo Bruno Selye. Этот ученый описал классические признаки общего адаптационного синдрома [195],

охарактеризовал стресс как неспецифическую реакцию организма. Он подчеркивал, что в результате воздействия любого стрессора возникает триада изменений, проявляющаяся в повышении уровня гормонов гипофиза и надпочечников в крови и моче, инволюции тимуса и изъязвлении слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта [194]. В его работах была показана роль гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой (ГГН) системы и симпатонадпочечниково-медуллярной оси в формировании стресс-ответа. Н. Selye выделил следующие три стадии стресса: тревоги – экстренной мобилизации защитных функций организма; резистентности – устойчивого поддержания достигнутого уровня адаптированности; истощения – спада сил, развития дезадаптации. Подчеркивалось, что первые две стадии не могут оказаться вредными для здоровья, в то время как третью стадию следует рассматривать как потенциально опасную [189, 191, 192].

Гансом Селье также были введены понятия «эустресс» – адаптивный, организующий, «положительный» стресс, и «дистресс» – дезинтегрирующий, «отрицательный» стресс, которые характеризуются одними и теми же неспецифическими реакциями на положительные или отрицательные стимулы [190, 191, 193]. Разработанная им концепция не отрицала существования моделей реагирования, специфичных для разных стрессоров, однако, указывалось, что такие изменения не представляют собой стресс, который является общим неспецифическим ответом.

Научные представления о стрессе, сформулированные Гансом Селье, обсуждались и были подвергнуты критике со стороны многих ученых. В ряде исследований представлены доказательства того, что стрессогенные стимулы вызывают сложные паттерны нейроэндокринной активации, которые, как правило, специфичны для стрессора [138, 161, 187]. Неоднократно подчеркивалось, что важным фактором, определяющим характер ответных реакций организма, является интенсивность стрессорного воздействия.

В плане исследования механизмов формирования состояния стресса у

млекопитающих большое значение имеет теория функциональных систем, разработанная в научной школе академиков П.К. Анохина и К.В. Судакова [9, 11, 12, 41]. Согласно данной теории, поддержание динамического постоянства внутренней среды организма обеспечивается за счет слаженного взаимодействия функциональных систем различных уровней – гомеостатического, метаболического, поведенческого.

К.В. Судаковым (2012) с позиций теории функциональных систем была охарактеризована стадийность изменений, наблюдающихся в организме при эмоциональном стрессе. В частности, на информационной стадии происходит дезинтеграция взаимодействия функциональных систем гомеостатического уровня, что проявляется в нарушении биоритмов организма (дыхания, сна, сердечной деятельности), расстройстве гормональной регуляции, пищевого и полового поведения, снижении иммунитета. Дальнейшее разобщение ряда функциональных систем этого уровня требует повышенной интенсивности их работы для поддержания оптимального протекания метаболических процессов.

Следующая стадия эмоционального стресса – метаболическая [38]. В условиях продолжающегося стрессогенного воздействия происходит чрезмерное усиление деятельности отдельных функциональных систем гомеостатического уровня. «Застойные» отрицательные эмоции распространяются через вегетативную и соматическую нервную систему, гипоталамо-гипофизарный гормональный механизм, оказывая влияние на многие ткани организма – таким образом, формируются системные реакции эмоционального стресса. Нарушение механизмов саморегуляции наиболее ослабленных функциональных систем может проявляться в стойком отклонении соответствующих функций, что приводит к сердечно-сосудистым, эндокринным, иммунным и другим заболеваниям [38].

Американский нейроэндокринолог В.С. McEwen с коллегами в ходе изучения последствий экологического и психологического стресса предложили понятия «аллостаз» и «аллостатическая нагрузка», как защитные и повреждающие эффекты биологической реакции на стрессоры. Аллостаз представляет собой процесс

адаптации посредством продукции различных соединений, таких как стероиды надпочечников, катехоламины, цитокины и тканевые медиаторы, активации немедленных ранних генов. При хроническом стрессорном воздействии инициируется физиологический ответ, ведущий к аллостатическим (адаптивным) реакциям. Указанные реакции вовлекают основные системы организма, аналогичные эффекторным системам стресса. Если аллостатические реакции эффективны, происходит адаптация организма, предупреждающая развитие повреждений. Однако в ситуациях, когда такие реакции длительны, неадекватны или чрезмерны при повторных воздействиях нескольких стрессоров, а также в случае несостоятельности адаптационных процессов, аллостатическая нагрузка приводит к дезадаптации и развитию разных нарушений [147, 148, 186]. Необходимо отметить, что состояние аллостатической нагрузки может отражать различные аспекты образа жизни человека (употребление пищи с высоким содержанием жиров, отсутствие физических упражнений и т.д.), нарушение нормальных ритмов сна / бодрствования в связи с влиянием медиаторов стресса на клетки и ткани организма [161].

В настоящее время имеются научные доказательства, указывающие на роль генетических механизмов в реализации адаптационных и дезадаптивных реакций в организме млекопитающих при стрессорных воздействиях. В частности, показано, что процессы адаптации во многом регулируются путем изменений экспрессии генов, развивающихся быстро при острых стрессорных нагрузках и наблюдающихся на протяжении короткого или более длительного периода времени после окончания воздействия [79, 92, 211]. Существенно, что предшествующий хронический стресс может значительно изменить характер экспрессии генов при последующем влиянии стрессогенных факторов [223]. Ряд наблюдающихся в указанных условиях эффектов опосредован связыванием глюкокортикоидов с соответствующими рецепторами, которые при активации действуют как факторы транскрипции [77, 148]. Выявлено, что стрессовые события могут влиять на потомство внутриутробно, а эпигенетические модификации, возможно,

наследуются через зародышевую линию – концепция, известная как трансгенерационная эпигенетика [208, 233].

Одно из ключевых событий, являющееся результатом стрессорных нагрузок на организм – ремоделирование архитектуры нейронов ЦНС, которое может быть признаком успешной адаптации. Однако сохранение данных изменений после окончания действия стресс-фактора указывает на снижение устойчивости организма [144]. Реконструкция клеток головного мозга при хроническом стрессе проявляется в ретракции дендритов и потере синапсов в областях, крайне чувствительных к стрессовым факторам, таких как гиппокамп, медиальная миндалина и медиальная префронтальная кора. В то же время, в этих условиях наблюдается расширение дендритов и появление новых синапсов в других областях, например, в базолатеральной миндалине и орбитофронтальной коре [148]. Например, опыты на животных моделях выявили изменения морфологии дендритов пирамидных нейронов в медиальной префронтальной коре. Была выдвинута гипотеза, что стресс-индуцированная ретракция дендритов и потеря шипиков приводят к нарушению связей, результатом чего являются функциональные изменения в медиальной префронтальной коре [54]. В исследованиях на клеточном уровне продемонстрировано, что состояние стресса сопровождается изменением синаптической пластичности, морфологических параметров нейронов, а также интенсивности нейрогенеза и нейродегенерации в гиппокампе [118]. Данные процессы вносят значительный вклад в изменения вегетативных и нейроэндокринных функций, соответствующих характеристик поведения, что необходимо для обеспечения жизнедеятельности организма при длительном стрессе.

Показано, что стрессорные воздействия оказывают выраженное влияние на состояние стволовых клеток [177]. Например, исследования на модели психологического стресса выявили изменения дифференцировки стволовых клеток кишечника у мышей [231]. Обнаружено, что активация стресс-ответа сопровождается изменением программы трансляции и снижением интенсивности

синтеза белка. Данные процессы, в частности, определяют формирование функциональных изменений стволовых клеток и могут приводить к онкогенезу [63]. У экспериментальных мышей, подвергнутых хроническому стрессу и характеризующихся высокой активностью симпатической нервной системы в этих условиях, выявлены изменения экспрессии генов гемопоэтических стволовых клеток, ускорение их пролиферации, усиление выработки нейтрофилов и моноцитов. Указанные события приводили к массивному выбросу воспалительных лейкоцитов в кровотоки, способствовали формированию атеросклеротических бляшек [97].

Таким образом, стрессорные воздействия вызывают не только быстро развивающиеся эффекты, но и долговременные изменения, проявляющиеся на протяжении длительного периода времени или даже всей жизни благодаря способности приводить к стабильным эпигенетическим модификациям.

1.1.2. Этиопатогенез острого и хронического стресса

Стрессорную реакцию могут вызывать разные этиологические факторы. В целом стрессоры классифицируются на четыре основные категории, однако, многие из них могут оказывать смешанное воздействие [160, 143]:

1. физические стрессоры – низкая / высокая температура, интенсивное излучение, шум, вибрация и др.;
2. психологические стрессоры, влияющие на эмоциональный статус и в определенных условиях вызывающие такие состояния, как тревога, страх, разочарование и др.;
3. социальные стрессоры (например, для лабораторных животных – изоляция от группы или размещение на территории хищника, у людей – конфликты, развод, мошенничество и др.);
4. стрессоры, изменяющие сердечно-сосудистые функции и метаболический гомеостаз – физические упражнения, ортостаз, наклон из вертикального

положения, воздействие тепла, гипогликемия, кровотечение.

По длительности стресс можно разделить на следующие четыре вида [142]:

1. острый, ограниченный по времени стресс – например, помещение поведенчески агрессивной крысы в домашнюю клетку к другим животным на фиксированный интервал времени;

2. стресс, вызванный последовательным воздействием стрессоров – одно инициирующее событие вызывает каскад физиологических и поведенческих изменений, наблюдающихся продолжительное время (например, разлучение детеныша обезьяны с матерью);

3. хронический периодический стресс – регулярно повторяющееся воздействие стресс-фактора (например, ежедневная иммобилизация животных на определенный период времени в течение нескольких недель);

4. хронический непрерывный стресс – постоянное воздействие стресс-фактора в течение длительного периода.

Следует отметить, что многие стрессоры различаются по интенсивности воздействия на млекопитающих [56, 218].

Стресс-реакция организма направлена на выживание путем изменения протекающих физиологических процессов и поведения. Колебания функциональной активности вегетативной нервной системы, эндокринных и иммунных механизмов, изменения поведения способствуют формированию интегрированной реакции на стрессорное воздействие.

Адаптационно-компенсаторная реакция организма на стрессогенные стимулы обеспечивает поддержание гомеостаза в указанных условиях. Данная реакция является результатом активации определенных структур ЦНС, генетически и конституционально запрограммирована, а также находится под постоянным модулирующим влиянием факторов окружающей среды.

Таким образом, адаптивный ответ на острый стрессор включает в себя комплекс физиологических процессов, необходимых для восстановления гомеостаза в условиях сдвига его показателей за пределы нормы. При острых

стрессорных нагрузках эти процессы обеспечивают перераспределение энергетических субстратов между клетками и тканями, а также избирательное подавление или стимуляцию различных функциональных систем или их компонентов. Данные изменения вносят вклад в мобилизацию дополнительных энергетических резервов и, тем самым, подготовку организма к возможному последующему воздействию стресс-факторов.

В исследовании, проведенным D. Kutí с соавт. (2022), установлено, что в условиях метаболического стресса ряд тканей характеризуется снижением потребления энергии, тогда как другие, играющие важную роль в обеспечении двигательной активности, получают достаточное количество питательных веществ. Необходимо подчеркнуть, что даже при метаболическом стрессе питательные вещества в необходимом объеме поступают с током крови в ЦНС. Повышенное энергообеспечение «важнейших» органов достигается преимущественно за счет усиленного выделения глюкокортикоидов и катехоламинов, которые в целом ингибируют поглощение глюкозы рядом тканей, стимулируют глюконеогенез и гликогенолиз, протеолиз и липолиз.

Одно из основных условий успешной адаптации организма к стресс-факторам – повышение функциональной активности физиологических систем организма под влиянием стрессора с обязательным восстановлением её до нормального уровня по окончании экстремального воздействия. В случае нарушения описанного баланса изменения интенсивности соответствующих физиологических процессов могут сопровождаться формированием стресс-индуцированных расстройств: гипертонии [8, 87, 196], инсульта [135], диабета [107, 133], ожирения [139], аутоиммунных и воспалительных болезней [150, 198], онкологических заболеваний [126], депрессии [157] и других.

Состояние хронического стресса может формироваться под влиянием гомотипических (одинаковых) и гетеротипических (разнообразных) стрессор-факторов. При этом характер реакции организма на данные виды стрессоров существенно различается. При продолжительном действии гомотипических

стрессоров возникает, так называемое, привыкание, которое сопровождается снижением соответствующих реакций со стороны ГГН-комплекса и, вероятно, ограничивает негативные эффекты длительной секреции глюкокортикоидов [98]. Указанные процессы находятся под регуляторным влиянием лимбических отделов мозга и, по крайней мере частично, зависят от состоятельности механизмов глюкокортикоидной обратной связи. Привыкание может наблюдаться при действии широкого спектра раздражителей, от легких (например, помещение в новую обстановку) до тяжелых (например, иммобилизация конечностей и головы) [65, 93]. Показано, что скорость развития привыкания зависит от силы стрессора [90]. Кроме того, уже более 50 лет назад Р.М. Groves и R.F. Thompson (1970) выдвинули предположение, что степень привыкания прямо связана с частотой, но обратно – с интенсивностью воздействия гомотипического стрессора. Привыкание способствует снижению выраженности общих физиологических реакций при повторяющихся стрессорных нагрузках; при этом наблюдается лишь небольшая потеря веса, не обнаруживается гипертрофия надпочечников, происходит незначительная инволюция тимуса, вызванная невыраженным эпизодическим усилением выброса кортикостерона [88]. Следует сказать, что связанные с привыканием механизмы обратной связи не ограничивают ответ ГГН-комплекса на новые стрессоры; более того, при их воздействии реакция организма может быть такой же или даже более выраженной, чем в отсутствии предыдущего влияния стрессогенного фактора [49, 137]. Например, непредсказуемое (гетеротипическое) или сильное стрессорное воздействие может приводить к продолжительному нарушению регуляции функциональной активности ГГН-системы, вероятно, связанному с изменениями контроля эффекторных путей стресса со стороны лимбических структур головного мозга. В частности, в исследованиях J.P. Herman (2013) показано, что длительный непредсказуемый стресс у животных сопровождается выраженным усилением кумулятивной секреции глюкокортикоидных гормонов, сенсibilизацией ГГН-комплекса (в плане ответа на новые стрессоры), изменением вариабельности сердечного ритма, снижением

прироста массы тела, подавлением реакции предпочтения сахарозы и ростом времени неподвижности в тесте принудительного плавания. Представленные данные иллюстрируют формирование выраженных изменений активности различных нейрохимических систем мозга в указанных условиях.

1.2. Иммунные процессы в формировании стрессорных реакций

Большую роль в реализации адаптационно-компенсаторных процессов у млекопитающих в условиях стресса играет иммунная система. В настоящее время имеются убедительные доказательства, указывающие на дисрегуляцию различных компонентов иммунной системы при длительных стрессорных воздействиях [62, 69, 80, 188, 214]. В этом аспекте большое внимание уделяется анализу вовлечения системы комплемента крови [70], цитокинов [37] и других иммуноактивных веществ в реализацию стрессорных реакций.

1.2.1. Система комплемента как фактор гуморальной иммунной регуляции в механизмах стресса

Один из важнейших гуморальных факторов врожденного иммунитета – система комплемента. Комплемент опосредует реакцию на воспалительные стимулы посредством скоординированного последовательного каскада ферментов, приводящего к элиминации чужеродных клеток за счет распознавания патогенов, опсонизации и лизиса. Комплемент обладает также противовоспалительными функциями: связывается с иммунными комплексами и апоптотическими клетками, способствует их удалению из кровообращения и поврежденных тканей [154].

Система комплемента представляет собой комплекс растворимых белков, мембранных рецепторов и регуляторов, который действует в плазме, тканях, на поверхности и даже внутри клеток [149]. Он состоит из более чем 40 белков, многие из которых являются зимогенами – неактивными предшественниками, которым

требуется расщепление, чтобы стать активными ферментами. В качестве центральных молекулярных структур выступают компоненты C1-C9. Активация комплемента может быть инициирована тремя путями: классическим, альтернативным и лектиновым. Классический путь активируется путем взаимодействия патогенных антигенов или аутоантигенов с антителами IgM и IgG. Альтернативный путь комплемента инициируется посредством спонтанного гидролиза C3 и прямого связывания C3b с патогенами или аутоантигенами для дальнейшей активации C3 компонента конвертазой C3. Лектиновый путь распознает ассоциированные с патогеном углеводные фрагменты (маннозные сахара и др.) посредством взаимодействия с маннозосвязывающими лектинами [199]. После активации ряд ферментов может многократно расщеплять свои субстраты, образуя самоусиливающийся каскад. Расщепление C3 – центральный этап усиления каскада, и, независимо от начального пути активации, амплификация на этапе конвертазы C3 происходит по альтернативному пути [141]. Таким образом, пути активации комплемента сходятся на C3, который является одним из основных компонентов системы комплемента и представляет собой белок острой фазы воспаления [42].

Помимо основных путей, обнаружены и другие механизмы активации системы комплемента. Например, различные сериновые протеазы, входящие в систему свертывания крови, активируют каскад комплемента независимо от описанных выше путей. Показано, что факторы свертывания крови FXa, FXIa и плазмин могут расщеплять как C5, так и C3, что приводит к образованию анафилатоксинов C5a и C3a [53]. Установлено, что FVIII и фактор фон Виллебранда обладают лектиновой активностью [183]. C-реактивный белок, являющийся реагентом острой фазы, может активировать классический путь системы комплемента [162]. Кроме того, в условиях ишемически-реперфузионного повреждения почек выявлена возможность перекрестного взаимодействия комплемента и Toll-like рецепторов с вовлечением митоген-активируемых протеинкиназ [74].

Активация каскада комплемента в организме происходит сразу после встречи с возбудителем. Комплемент участвует в опсонизации патогена, маркируя его для поглощения антигенпрезентирующими клетками. Анафилатоксины C3a и C5a имеют ключевое значение в привлечении воспалительных клеток и высвобождении медиаторов, усиливающих воспаление, в том числе, хроническое. C3a не действует как хемоаттрактант для нейтрофилов, но способствует миграции эозинофилов и тучных клеток. Кроме того, C3a и C5a взаимодействуют с соответствующими рецепторами, экспрессируемыми на клетках врожденного иммунитета (например, дендритных клетках), играя роль в инициации/регуляции Т-клеточного ответа [154, 199]. После образования патоген-специфических антител комплемент способствует клиренсу иммунных комплексов и элиминации патогена [149].

Существенно, что в дополнение к иммунным механизмам активации системы комплемента, во многих работах описан ряд факторов неантигенной природы, влияющих на активность комплемента. В частности, установлена взаимосвязь функциональной активности системы регуляции циркадных ритмов с интенсивностью биосинтеза компонентов комплемента [199]. Zhang C. с соавт. (2017) обнаружена активация альтернативного каскада комплемента молекулярными структурами, высвобождаемыми из поврежденных миофибрилл; сделан вывод о том, что система комплемента способствует регенерации мышечных волокон.

Стрессорные воздействия также оказывают выраженное регуляторное влияние на систему комплемента. В условиях длительного окислительного стресса у крыс обнаружено повышение активности C3 и C5 компонентов комплемента [106]. Выявлено, что как кратковременные, так и продолжительные физические нагрузки оказывают модулирующий эффект на белки системы комплемента [180]. В наблюдениях на студентах продемонстрировано, что острый холодовой и психоэмоциональный стресс сопровождается уменьшением активности C1-C5 компонентов комплемента [32]. Активность C3 компонента системы комплемента

также снижается при острой соматической боли [22].

Относительно недавно доказано наличие двусторонних взаимосвязей между активностью системы комплемента и структурно-функциональными характеристиками клеток ЦНС. Нейроны, астроциты и клетки микроглии экспрессируют рецепторы и регуляторы комплемента, а также способны синтезировать белки комплемента. Выявлено, что комплемент оказывает модулирующее действие на нейрогенез, миграцию и реструктуризацию синапсов, а также на процессы синаптической пластичности, лежащие в основе обучения и памяти во взрослом мозге. Все эти факторы во многом определяют поведение и другие реакции млекопитающих в условиях стресса [204, 216, 217].

1.2.2. Цитокины как факторы нейроиммунной регуляции в механизмах стресса

Цитокины – группа небольших молекул, которая включает в себя интерфероны, интерлейкины (ИЛ), хемокины и факторы некроза опухоли и играет важную роль в процессах передачи сигналов в иммунной системе. Эти соединения имеют широкий спектр функций, секретируются практически всеми иммунными клетками, и достаточно часто классифицируются как про- или противовоспалительные цитокины [175].

В настоящее время известно, что одним из основных цитокинов, оказывающих регуляторное воздействие на цитокиногенез в разных условиях жизнедеятельности, является ИЛ-10. Этот цитокин синтезируется почти всеми подгруппами лейкоцитов, включая дендритные клетки, макрофаги, Т-клетки, естественные киллеры и В-клетки [159]. ИЛ-10 ингибирует продукцию: интерферона- γ (ИФН- γ) и ИЛ-2 – лимфоцитами Th1; ИЛ-4 и ИЛ-5 – лимфоцитами Th2; ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-12 и фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) – мононуклеарными фагоцитами; ИФН- γ и ФНО- α естественными клетками-киллерами. Кроме того, данный цитокин снижает показатели выживаемости

эозинофилов и ИЛ-4-индуцированный синтез IgE. Таким образом, ИЛ-10 подавляет выделение цитокинов, связанных с клеточным иммунитетом и аллергическим воспалением, при этом стимулируя гуморальные реакции [72]. ИЛ-10 стимулирует тучные клетки, тимоциты и В-клетки, оказывает выраженное иммуносупрессивное действие на миелоидные клетки [159].

Продемонстрировано, что ИЛ-10 имеет противоопухолевую активность, опосредованную следующими механизмами: ингибирование ангиогенеза и уменьшение продукции ИЛ-1 β , ФНО- α и ИЛ-6, играющих важную роль в неоваскуляризации; нарушение регуляции фактора роста эндотелия сосудов [151]. Кроме того, в работе Н. Nimmerich с соавт. (2013) обнаружен негативный эффект ИЛ-10 в аспекте формирования аутоиммунных расстройств.

ИЛ-10 относится к эндогенным модуляторам ноцицепции [4], обладающим антиноцицептивным эффектом. Это обусловлено активацией секреции анальгезирующих веществ, которая сопровождается дифференциальной экспрессией генов, кодирующих эндогенные опиоидные пептиды, особенно β -эндорфин [61, 222].

Следует отметить, что особое внимание в настоящее время уделяется ИЛ-4, характеризующемуся выраженным плеiotропным действием. Данный цитокин продуцируется преимущественно активированными CD4⁺ Т-клетками, НКТ-клетками, макрофагами, эозинофилами, базофилами, тучными клетками и врожденными лимфоидными клетками 2-го типа. ИЛ-4 оказывает регуляторное воздействие на широкий спектр клеток-мишеней, включая макрофаги, гемопоэтические клетки-предшественники, стромальные клетки, НК-клетки и фибробласты; активно вовлекается в синтез IgE; способствует дифференцировке клеток Th2; подавляет функции нейтрофилов; обладает мощным антиапоптотическим эффектом [115]. ИЛ-4 повышает чувствительность макрофагов к апоптотическим нейтрофилам и запускает ремоделирование множества тканей, обеспечивая их регенерацию [129, 164]. Важной особенностью ИЛ-4 является его антиноцицептивная активность, связанная со стимуляцией

продукции противовоспалительными макрофагами опиоидных пептидов, таких как мет-энкефалин, β -эндорфин и динорфин А 1-17 [68].

Влияние цитокинов на ткани ЦНС опосредовано множеством различных механизмов, включая прямой транспорт через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), стимулирующее действие на нервные структуры, высвобождение из инфильтрирующих или резидентных иммунных клеток. Попадание цитокинов в ЦНС реализуется посредством механизмов насыщаемого транспорта. Кроме того, циркулирующие цитокины способствуют аблюминальной экспрессии растворимых медиаторов. Таким образом, ГЭБ может выполнять функцию ретрансляции иммунных сигналов между системным кровотоком и клетками головного мозга [140].

Установлено, что ИЛ-4 способен подавлять активность переносчика серотонина в клетках микроглии. Снижение уровня ИЛ-4 способствует проявлению депрессивно-подобного поведения [215]. Недавние исследования на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса у мышей выявили, что однократное интраназальное введение ИЛ-4 значительно снижает степень депрессивно-подобного состояния, приводит к уменьшению концентрации кортикостерона в плазме крови и способствует росту массы надпочечников в указанных условиях [200].

В настоящее время выявлено несколько механизмов, лежащих в основе реализации нейроиммунных взаимодействий. Глюкокортикоидные гормоны связываются с рецепторами иммунных клеток в периферических тканях и ЦНС, оказывая про- или противовоспалительный эффект в зависимости от дозы, длительности и места воздействия [84]. Установлено, что как глюкокортикоиды, так и катехоламины непосредственно подавляют синтез ИЛ-12, ИЛ-2, ФНО- α и ИФН- γ , усиливающих клеточный иммунитет и образование Th1, но способствуют продукции ИЛ-10, ИЛ-4 и ИЛ-13, индуцирующих гуморальные иммунные реакции и активность клеток Th2 [86, 124]. Цитокины, в свою очередь, модулируют ГГН-систему, регулируя физиологические реакции на стрессорные нагрузки. Например,

ИЛ-1, ИЛ-6 и ФНО- α оказывают прямой или опосредованный активирующий эффект на ГГН-комплекс, что сопровождается усилением выделения адренкортикотропного гормона (АКТГ) и кортикостерона [175]. Однако ИЛ-10 и ИФН- γ обладают ингибирующими свойствами в плане функциональной активности стресс-реализующей системы [111]. Симпатические нервные волокна, проходящие от головного мозга к костному мозгу, тимусу, селезенке и лимфоидным тканям, играют важную роль в высвобождении ряда гормонов, которые затем связываются с соответствующими рецепторами на иммунных клетках. Цитокины могут оказывать стимулирующее влияние на блуждающий нерв, что обеспечивает еще один механизм реализации связей между мозгом и периферической иммунной системой [175].

Таким образом, реципрокное влияние стресс-реализующих и иммунных структур как на центральном, так и на периферическом уровнях обеспечивается благодаря тесным двусторонним функциональным взаимосвязям и опосредовано прямыми или косвенными механизмами. Следовательно, различные стресс-факторы вызывают отрицательные эффекты не только на функциональное состояние ЦНС, но и иммунной системы в организме млекопитающих.

Необходимо подчеркнуть, что последствия стрессорных нагрузок, в том числе, степень иммунной дисфункции, индивидуальны и во многом зависят от вида, длительности и интенсивности воздействия. Доказательством данного факта, в частности, являются стресс-индуцированные изменения показателей цитокинового профиля крови, обнаруженные в ряде предыдущих работ.

Примером являются результаты исследований показателей ИЛ-4 при стрессорных воздействиях. В условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса у мышей было установлено, что экспрессия мРНК ИЛ-4 и уровень указанного цитокина в сыворотке крови увеличиваются на 7-й день воздействий [100]. Противоположные данные были получены в других экспериментах. В частности, повторяющиеся стрессорные нагрузки у крыс на модели ежедневной 4-ч иммобилизации в течение 8 суток не сопровождались значимыми колебаниями

содержания ИЛ-4 в крови [25]. Более того, однократная длительная иммобилизация (24 ч) поведенчески пассивных животных в индивидуальных пеналах приводила к снижению концентрации ИЛ-4 в сыворотке крови [31].

Противоречивые данные были получены также при изучении колебаний концентрации ИЛ-10 в условиях экспериментального стресса. В частности, на моделях хронического (ежедневная 4-ч иммобилизация в течение 10 суток) и острого стресса (принудительное плавание) было обнаружено уменьшение содержания ИЛ-10 в крови крыс [99]. Снижение уровня этого цитокина у животных наблюдалось и после острого стресса, вызванного 24-ч иммобилизацией [31]. Однако концентрация ИЛ-4 в сыворотке крови крыс возрастала после повторных стрессорных воздействий на модели ежедневной 4-ч иммобилизации в индивидуальных пластиковых пеналах на протяжении 8 суток [25].

Представленные результаты иллюстрируют вариабельность изменений показателей цитокинового профиля крови у млекопитающих на различных экспериментальных моделях острых и хронических стрессорных нагрузок.

1.3. Эндокринология стресса

1.3.1. Нейроэндокринные изменения в условиях стресса

Общеизвестно, что важную роль в развитии ответа организма на действие стрессогенных факторов играют две нейроэндокринные системы – симпатoadреналовая система и ГГН-комплекс, относящиеся к так называемым стресс-реализующим системам. В условиях острого стресса первоначальная реакция осуществляется за счет деятельности симпатoadреналовой системы: наблюдается интенсивное высвобождение катехоламинов из мозгового вещества надпочечников (включая норадреналин, адреналин и небольшое количество дофамина), инициируется реакция «бей или беги» (fight-or-flight response). Последующая активация ГГН-комплекса сопровождается секрецией

кортиколиберина и АКТГ клетками гипоталамуса и передней доли гипофиза соответственно. Стимуляция пучковой зоны коры надпочечников в указанных условиях приводит к активному выделению глюкокортикоидных гормонов в кровотоки (кортикостерона – у животных, кортизола – у человека). Выброс кортикостерона регулируется по принципу отрицательной обратной связи: циркулирующие глюкокортикоиды подавляют секрецию кортиколиберина и АКТГ из указанных структур мозга, а также усиливают активность клеток гиппокампа, который, в свою очередь, обладает ингибирующим влиянием на ГГН-систему [13, 15, 43, 110].

Выделение кортикостерона является наиболее изученным маркером реакции ГГН-комплекса на стрессогенные факторы. Показано, что в крови примерно 5% кортикостерона циркулирует в свободной растворимой форме. Остальные 90–95% кортикостерона связываются с белками, в том числе: 80% – с кортикостероид-связывающим глобулином, или транскортином (высокое сродство), до 15% – с альбумином (низкое сродство). Следует отметить, что только свободный кортикостерон является биологически активным гормоном, который может проникать в клетки и связываться с глюкокортикоидными рецепторами [119]. Связанный с глобулином кортикостерон с вовлечением провоспалительных хемокинов транспортируется к тканям и клеткам; отсоединение гормона от белкового носителя происходит благодаря активности эластазы, секретируемой нейтрофилами [60].

Начальные изменения, происходящие в организме при стрессорном воздействии, способствуют выживанию в указанных условиях. Однако адаптивные физиологические реакции и соответствующие регуляторные механизмы у млекопитающих могут быть нарушены при неадекватном, чрезмерном и хроническом стрессе (длительном, постоянном, регулярно повторяющемся). Наблюдающиеся в указанных условиях нейроэндокринные реакции приводят к формированию так называемого «уязвимого фенотипа», включающего нарушение передачи сигналов глюкокортикоидных гормонов, а также физиологического

ответа симпатoadреналовой системы и ГГН-комплекса на стресс-фактор [119, 209].

Длительный адаптивный ответ при хроническом стрессе приводит к повышенной активации ГГН-комплекса, что связано с усилением секреции кортиколиберина в гипоталамусе и, соответственно, интенсивным выделением АКТГ из гипофиза и кортикостерона из коры надпочечников. Гиперактивация стресс-реализующих систем приводит к устойчивому росту концентрации кортикостерона, а также к нарушению регуляции по принципу отрицательной обратной связи со стороны глюкокортикоидных гормонов. Эта начальная адаптивная гиперкортизолемическая фаза может перейти во вторичное, компенсаторное и самоподдерживающееся подавление активности ГГН-системы со снижением выработки кортизола по механизму отрицательной обратной связи [47].

Физиологические системы, обеспечивающие отрицательную обратную связь, называются стресс-лимитирующими [18, 19]. Выделяют два вида таких систем: центральные и периферические. Центральными системами являются, в частности, ГАМК- и опиоидергические системы, система оксида азота, дофаминовая система комплекса «черное вещество – стриатум» [58].

ГАМК-ергические нейроны широко представлены в головном мозге млекопитающих, например, в структурах, активно участвующих в регуляции стресс-ответа: гиппокампе, миндалевидном теле, префронтальной коре [101]. Синтезируемая из глутамата γ -аминомасляная кислота (ГАМК) вызывает пре- и постсинаптическое торможение нейронов, предотвращает чрезмерное возбуждение симпатoadреналовой и гипофизарно-адреналовой систем, ограничивает секрецию гормонов стресса [15].

В разных структурах ЦНС также присутствует значительное количество нейронов, продуцирующих опиоидные пептиды. В условиях стресса данные пептиды тормозят выработку кортиколиберина, глюкокортикоидных гормонов, катехоламинов, вазопрессина [15].

Большую роль в регуляции стресс-ответа у млекопитающих играет также

эндоканнабиноидная система. Исследования на животных показали, что увеличение уровня двух эндоканнабиноидов – 2-арахидоноилглицерина и анандамида – препятствует формированию отрицательных последствий стрессорных воздействий [184]. Как было сказано выше, усиленное выделение кортизола в условиях стресса инициирует механизмы быстрой обратной связи. Данные процессы сопровождаются повышением продукции эндоканнабиноидов, активацией каннабиноидных рецепторов в глутаматергических терминалях. В последующем это снижает или подавляет высвобождение глутамата, а также препятствует дальнейшему синтезу кортикотропин-рилизинг гормона (КРГ) [114].

Воздействие стрессогенного фактора приводит к изменению состояния дофаминергических нейронов в мезолимбической дофаминовой системе. В указанных условиях проявляется модулирующий эффект на функциональную активность «системы вознаграждения», участвующей в мониторинге и выборе оптимальной стратегии преодоления стресса [182].

В работе I.Y. Malyshev и E.B. Manukhina (1998) показана структурно-морфологическая основа NO-зависимого контроля центральных звеньев стресс-реакции. Продемонстрировано, что клетки гипофиза получают широко разветвленную NO-ергическую иннервацию от гипоталамуса; таким образом, окись азота оказывает модулирующий эффект на гипофизарную секрецию гормонов. Представленные данные позволяют предположить, что NO играет важную роль в регуляции гормональной функции гипофиза и, следовательно, способствует предотвращению чрезмерной активации центрального отдела стресс-системы.

К веществам, входящими в состав стресс-лимитирующих систем организма, относятся простагландины, антиоксиданты, аденозин и некоторые другие [58]. Регулирующий эффект этих физиологически активных соединений на перекисное окисление липидов, высвобождение норадреналина из симпатических нервных окончаний и ряд других процессов вносит вклад в предотвращение стресс-индуцированных изменений в клетках, тканях и органах.

Необходимо подчеркнуть, что чувствительность млекопитающих к развитию отрицательных последствий воздействия повреждающих факторов внешней среды определяется соотношением активностей стресс-реализующей и стресс-лимитирующей систем. Стрессоустойчивость, степень реакции на стресс – главный критерий адаптивности и жизнеспособности людей и животных в экстремальных ситуациях. В настоящее время описаны некоторые нейрогуморальные механизмы, лежащие в основе смещения баланса между указанными системами в условиях как острого, так и хронического стресса.

Например, в исследованиях на модели хронического непредсказуемого стресса у крыс выявлен дефицит нейротрансмиссии ГАМК в префронтальной коре на 21-й день воздействий [91]. Данные особенности приводят к изменению соотношения процессов торможения / возбуждения, сопровождающемуся развитием поведенческих расстройств. В работе S. Xu с соавт. (2020) показано, что хронический непредсказуемый мягкий стресс в течение 4 недель приводит к нарушению цикла глутамин-глутамат-ГАМК в тканях полосатого тела, гиппокампа и мозжечка животных. Следовательно, хронические стрессорные воздействия сопровождаются нарушениями ГАМК-ергической передачи сигналов, необходимой для регуляции стресс-реакции.

Экспериментальные исследования на грызунах обнаружили снижение антиноцицептивного эффекта морфина в состоянии хронического стресса, что указывает на дисфункцию эндогенной опиоидной системы в данных условиях [153]. Действительно, длительные стрессорные нагрузки приводят к изменению экспрессии опиоидных рецепторов в тканях ЦНС и нарушению их чувствительности к агонистам и антагонистам.

Установлено, что разные по характеру стрессорные воздействия имеют определенные особенности в плане реализации NO-ергических механизмов [136]. В частности, действие кратковременных или умеренных стресс-факторов приводит к увеличению продукции NO, что соответствует стадии мобилизации в ответ на соответствующую ситуацию. Однако при длительном влиянии негативных

стимулов окружающей среды наблюдается снижение синтеза NO, что типично для стадии истощения при чрезмерном напряжении физиологических систем организма.

В дополнение к сказанному выше, нужно отметить, что хронические стрессорные воздействия у млекопитающих сопровождаются также значимым снижением активности и нарушением функций дофаминергической системы [182].

Существенным представляется то, что специфика реакции со стороны нейроэндокринной стресс-системы определяется не только длительностью, но также видом и интенсивностью стрессогенного фактора. Например, в работе К. Расака и М. Palkovits (2001) выполнен сравнительный анализ характера ответа на стрессоры низкой и высокой интенсивности у лабораторных крыс. Концентрацию норадреналина, адреналина, кортикостерона и АКТГ измеряли в плазме артериальной крови после воздействия одного из пяти различных стрессоров: иммобилизация (2 ч), кровотечение (10% или 25% от расчетного объема крови), воздействие холода (4⁰С или 3⁰С), боль (подкожное введение 1% или 4% формалина), гипогликемия (внутривенное введение инсулина в дозе 0,1, 1,0 или 3,0 МЕ/сут/кг). В результате проведенного исследования была подтверждена выраженная гетерогенность нейроэндокринных реакций в ответ на используемые стресс-факторы. Следовательно, каждый стрессогенный стимул имеет свою собственную нейрохимическую «сигнатуру», которая проявляется, в частности, количественными и даже, возможно, качественными особенностями центральных механизмов.

В ряде экспериментальных исследований изучен характер изменений уровня одного из типичных стресс-гормонов – кортикостерона – в крови животных. В частности, показано, что содержание этого гормона значительно возрастает у крыс, подвергнутых хроническому иммобилизационному стрессу на протяжении 2 недель [221]. В другой работе выявлено, что концентрация кортикостерона в крови крыс увеличивается через 1 неделю и менее значимо через 2 недели многократных иммобилизаций, но снижается к 4-й неделе воздействий [152]. Представленный

факт иллюстрирует процесс привыкания животных к регулярно повторяющимся стрессорным нагрузкам. Другая модель хронического стресса, использованная в опытах Н.А Мураевой с соавт. (2021) – ежедневная 1-ч иммобилизация крыс с последующим принудительным плаванием в течение 15 мин на протяжении 2, 4 и 8 недель. Часть животных проходили восстановление на протяжении 6 недель. Установлено, что повышенный при стрессе уровень сывороточного кортикостерона снижается до нормальных значений через 6 недель восстановительного периода после 2 или 4 недель повторяющихся воздействий, но не в случае стрессорных нагрузок в течение 8 недель.

Следовательно, стресс-индуцированные изменения функциональной активности физиологических систем организма значительно различаются в зависимости от вида, длительности и частоты предъявления стрессогенных факторов, а также от индивидуальной чувствительности к развитию дисрегуляторной патологии при экстремальных воздействиях.

1.3.2. Обмен глюкозы у животных в условиях стресса

В контексте адаптивной реакции организма на стрессорные воздействия катехоламины и глюкокортикоидные гормоны оказывают преимущественно катаболическое действие, что определяет общую мобилизацию доступных энергетических ресурсов. Катехоламины активируют гликогенолиз в печени, в то время как глюкокортикоиды усиливают глюконеогенез в печени и почках. Кроме того, глюкокортикоидные гормоны подавляют поглощение глюкозы в ряде периферических тканей, уменьшают её окисление и снижают накопление гликогена, а также стимулируют секрецию глюкагона в печени. Посредством этих процессов уровень глюкозы в крови увеличивается в условиях стресса.

Катехоламины и глюкокортикоидные гормоны индуцируют липолиз, но, способствуют накоплению жира в брюшной и дорсоцервикальной областях. Под действием этих гормонов происходит выделение неэтерифицированных жирных

кислот (дополнительный источник энергии для сердечной и скелетных мышц, почек) и глицерина (субстрат глюконеогенеза).

Глюкокортикоидные гормоны вызывают деградацию белка во многих тканях (скелетных мышцах, костях и коже, лимфоидной и жировой тканях и др.) с образованием аминокислот, которые используются как дополнительный субстрат в окислительных реакциях и процессе глюконеогенеза [15, 212].

В дополнение к описанным эффектам, глюкокортикоидные гормоны оказывают модулирующее влияние на функцию α - и β -клеток поджелудочной железы, регулируя секрецию глюкагона и инсулина – гормонов, играющих ключевую роль в регуляции уровня глюкозы в крови [122].

Следует подчеркнуть, что кроме прямого катаболического действия, глюкокортикоидные гормоны препятствуют проявлению анаболических влияний гормона роста, инсулина и половых стероидов на органы/ткани-мишени [212]. Указанные сдвиги метаболизма в сторону превалирования катаболических процессов, происходящие при повышении активности ГН-комплекса, обычно исчезают после окончания стрессорного воздействия. Однако чрезмерная, длительная стимуляция этой системы, в частности, при хроническом стрессе может иметь ряд негативных последствий: развитие висцерального ожирения, подавление активности остеобластов, снижение мышечной массы тела и формирование резистентности к инсулину [60, 212].

Инсулин – белковый гормон, вырабатываемый β -клетками островков Лангерганса поджелудочной железы [121]. После приема пищи поступление в кровь глюкозы приводит к выбросу инсулина, что затем облегчает поглощение глюкозы клетками [116]. В скелетных мышцах инсулин способствует не только использованию, но и депонированию глюкозы за счет увеличения её транспорта и продукции гликогена. В печени инсулин активизирует синтез гликогена, увеличивает экспрессию липогенных генов и снижает экспрессию глюконеогенных генов. Исследования M.C. Petersen и G.I. Shulman (2018) показали, что в белой жировой ткани инсулин подавляет липолиз и увеличивает транспорт глюкозы и липогенез.

Нужно подчеркнуть, что эффекты инсулина не ограничиваются исключительно его метаболической ролью, но проявляются также на уровне головного мозга в виде регуляции аппетита и насыщения. Повышение уровня инсулина после приема пищи служит сигналом мозгу о поступлении достаточного количества питательных веществ, что приводит к появлению ощущения сытости, подавлению чувства голода [116]. Установлено, что глюкокортикоидные гормоны оказывают прямой ингибирующий эффект на индуцированное глюкозой выделение инсулина, вследствие чего снижается толерантность к глюкозе [212].

Некоторые особенности обмена глюкозы были изучены на животных моделях хронического стресса. Например, иммобилизационные воздействия у крыс на протяжении 9 недель не приводили к изменениям передачи сигналов инсулина (оцениваемой по уровню экспрессии IRS1 и Akt в печени), обмена глюкозы или пререцепторного метаболизма печеночных глюкокортикоидов (за исключением уровня 5 α -редуктазы, инактивирующей кортикостерон) [205]. С другой стороны, ежедневное предъявление стресс-факторов у животных (принудительное плавание и 1-ч иммобилизация) в течение 2, 4 и 24 недель сопровождалось ростом уровня глюкозы в крови натошак, наблюдающимся как во время, так и на протяжении 8 недель после окончания воздействий [156].

В работе А.О. Morakinyo с соавт. (2016) толерантность к глюкозе и чувствительность к инсулину изучены у животных с применением различных видов ежедневной иммобилизации (с целью предотвращения привыкания) на протяжении разных периодов времени. Глюкозотолерантный тест показал, что в указанных условиях уровень глюкозы в крови значительно возрастает после стрессорных нагрузок в течение 1 или 2 недель. При этом чувствительность к инсулину снижалась через 2 недели, но выражено увеличивалась к окончанию 4-й недели экспериментального стресса.

В другом исследовании обнаружено, что моделирование хронического непредсказуемого мягкого стресса у крыс на протяжении 4 недель приводит к нарушению толерантности к глюкозе [165]. Указанные изменения наблюдались как

сразу, так и через 5 недель восстановительного периода после стрессорных нагрузок, что сопровождалось ростом уровня инсулина в плазме крови.

Представленные данные указывают на то, что регуляторные механизмы обмена углеводов и особенности метаболизма глюкозы у млекопитающих в условиях хронического стресса значимо различаются в зависимости от вида и длительности действия стрессогенных факторов, а также периода наблюдений.

1.3.3. Изменения массы тела у животных в условиях стресса

Ответ организма на различные стрессорные воздействия включает в себя мобилизацию энергетических ресурсов, необходимых для обеспечения адаптивного реагирования в угрожающей ситуации. Такие факторы, как вид, интенсивность и продолжительность действия стрессоров во многом определяют характер и направленность физиологических процессов, лежащих в основе реализации метаболической реакции на стресс [123].

К настоящему времени установлен широкий спектр метаболических изменений в организме млекопитающих, наблюдающихся при стрессогенных воздействиях. С одной стороны, в состоянии острого, выраженного стресса, сопровождающегося повышением симпатического тонуса, чаще происходит прекращение или уменьшение приема пищи с последующим снижением прибавки массы тела. Данные анорексигенные эффекты частично объясняются активацией ГГН-комплекса с сопутствующим интенсивным высвобождением КРГ. С другой стороны, хронические стрессорные нагрузки могут вызывать изменения в поведении, влияющие на физическую активность (например, малоподвижный образ жизни) и пищевые привычки (чрезмерный прием пищи, употребление алкоголя и др.). В результате при длительном стрессе нередко наблюдается увеличение массы тела, нарушения метаболизма жиров и углеводов, развитие висцерального ожирения, что, в частности, связано с длительным выбросом глюкокортикоидных гормонов и нейропептида-γ [95, 108, 173]. Хронические

стрессорные воздействия значительно повышают риск развития метаболического синдрома (в том числе, абдоминального ожирения), гипертонической болезни, диабета 2-го типа (высокий уровень глюкозы и триглицеридов, низкое содержание ЛПВП), сердечно-сосудистых болезней [78, 89, 133].

Характер влияния хронических стрессорных нагрузок у млекопитающих на массу тела и особенности потребления пищи изучен в целом ряде работ. Например, установлено, что стрессорные воздействия у экспериментальных животных на модели многократных иммобилизаций приводят к увеличению концентрации грелина, снижению уровней лептина и адипонектина в крови – гормонов, играющих важную роль в регуляции приема пищи и насыщения [152, 226].

В исследованиях на модели хронического иммобилизационного стресса у крыс в течение 2 недель выявлено выраженное замедление прибавки массы тела [221]. Ограничение подвижности крыс с использованием разных видов иммобилизации для исключения возможности привыкания на протяжении 1, 2 и 4 недель приводило к уменьшению массы тела, а также к снижению потребления пищи уже к окончанию 1-й недели повторяющихся воздействий [152].

М. Radahmadi с соавт. (2015) продемонстрировали, что ежедневная 6-ч иммобилизация крыс в течение 21 дня сопровождается уменьшением массы тела, однако, прирост данного показателя у этих особей возрастал в динамике восстановительного периода.

Эксперименты на модели стресса социального доминирования показали, что как доминирующие, так и подчиненные крысы проявляют гипофагию в первые дни после группировки колонии, то есть в период формирования иерархических отношений [203]. Уже через 3-5 дней после становления соответствующей иерархии потребление пищи остается на низком уровне у подчиненных, но возвращается к нормальным показателям у доминирующих особей.

Моделирование хронического непредсказуемого мягкого стресса у крыс длительностью 6 недель сопровождалось задержкой прироста массы тела на протяжении всего периода наблюдений, наиболее значимо – после 1-й недели

воздействий [102]. Аналогичные результаты были получены при изучении последствий хронического непредсказуемого стресса в течение 4 недель [165]. Обнаружено, что прирост массы тела у животных значительно снижается через 28 дней стрессорных воздействий, но возвращается к норме после 5-недельного периода восстановления. В работе К. Zhang с соавт. (2021) на аналогичной модели хронического стресса у крыс в течение 6 недель выявлено не только замедление прироста массы тела, но и уменьшение количества потребляемой пищи.

Результаты экспериментальных исследований на грызунах показывают, что хронические стрессорные воздействия в основном приводят к снижению потребления пищи, а также к уменьшению массы тела или задержке прироста этого показателя.

1.4. Ноцицептивная чувствительность у животных в условиях стресса

Стресс и боль – это разные, но во многом взаимосвязанные состояния, имеющие некоторые физиологические сходства. В настоящее время приняты две концепции, иллюстрирующие данный факт. Первая из них рассматривает боль, как один из видов стресса, сопровождающегося повышенной нагрузкой на организм. Согласно другой концепции, продолжительные стрессогенные воздействия могут приводить к формированию хронической боли [46]. В 2020 году Международной ассоциацией по изучению боли (IASP) было предложено определение понятия «боль», как неприятное сенсорное и эмоциональное переживание, связанное с действительным или возможным повреждением тканей или схожее с таковым переживанием [45].

Боль представляет собой интегративную многокомпонентную реакцию организма на повреждающее воздействие, а ее возникновение может быть обусловлено целым рядом этиологических факторов [1]. Известно, что регуляция болевой чувствительности реализуется благодаря функционированию ноцицептивной и антиноцицептивной систем [5]. Ноцицептивная система

обеспечивает функциональную активность нейронных путей, которые позволяют ЦНС обнаруживать и избегать вредные и потенциально опасные раздражители [57]. Соматосенсорная информация передается от рецепторов периферических тканей к спинному мозгу через дорсальные корешки, затем поступает к дорсальному рогу, таламусу и, наконец, к первичной сенсорной области коры головного мозга, что приводит к ощущению боли [64, 213].

Согласно системным представлениям, у млекопитающих выделяют следующие компоненты ноцицептивной чувствительности: поведенческий, перцептуальный, эмоционально-аффективный, вегетативный, двигательный, когнитивный, иммунный. В исследованиях боли наиболее часто изучаются перцептуальный компонент, который отражает собственно ощущение боли и позволяет определить локализацию повреждения, а также эмоциональный компонент, характеризующий эмоциональную реакцию на ноцицептивное воздействие [1, 34].

Характер влияния стрессорных нагрузок на болевую чувствительность во многом неоднозначен. В условиях стресса болевая реакция на физические или психологические раздражители может как усиливаться, так и снижаться, что зависит преимущественно от вида, интенсивности и продолжительности действия стрессогенного фактора [59, 158]. Наблюдающиеся при этом изменения во многом определяются функциональной активностью антиноцицептивной системы. Нисходящие тормозные влияния, приводящие к подавлению болевых ощущений, могут быть опосредованы опиоидными и каннабиноидными механизмами, а также реализуются через неопиоидные системы. В научной литературе имеются убедительные доказательства, иллюстрирующие возможность формирования как стресс-аналгезии, так и гипералгезии [5, 50, 59, 163]. Исследования, проведенные Y. Du с соавт. (2022), показали, что воздействие умеренных по интенсивности стрессоров приводит к опиоидной анальгезии, сильных стресс-факторов – неопиоидной анальгезии, в то время как слабые стрессогенные стимулы не вызывают какого-либо обезболивающего эффекта. Кроме того, предполагается, что

когнитивная оценка болевой реакции зависит, в частности, от морфологических перестроек в структурах мозга, например, в гиппокампе, при стрессорных нагрузках разных видов [146].

Нисходящий путь подавления боли включает в себя околоспинальное серое вещество среднего мозга, вентромедиальное ядро и дорсальные рога спинного мозга. Активация нейронов этого пути блокирует передачу ноцицептивных сигналов от дорсального рога спинного мозга к супраспинальным областям ЦНС, связанным с формированием болевых ощущений, что в результате оказывает антиноцицептивный эффект [83, 103].

Эндогенная каннабиноидная система представлена эндоканнабиноидами, ферментами их синтеза и распада, а также соответствующими рецепторами. Каннабиноидные рецепторы 1-го типа идентифицированы в ЦНС на ГАМК-ергических и глутаматергических нейронах, а каннабиноидные рецепторы 2-го типа – на глиоцитах и некоторых клетках периферических тканей. Наиболее изученные эндогенные каннабиноиды – анандамид и 2-арахидоноилглицерин, которые в определенных условиях синтезируются в постсинаптических нейронах и действуют ретроградно [82]. В работе К.К. Каур с соавт. (2024) показано, что воздействие стрессогенных и некоторых других факторов приводит к активации эндоканнабиноидной системы, что сопровождается повышением концентрации эндогенных каннабиноидов.

Эндогенная опиоидная система играет важную роль в формировании боли. Данная система включает в себя четыре типа трансмембранных G-белковых рецепторов – μ -, Δ -, κ -рецепторы и рецепторы ноцицептина – которые в физиологических условиях активируются эндогенными опиоидными пептидами, такими как эндорфины, энкефалины, динарфины и ноцицептин / орфанин [73]. Экспрессия различных типов опиоидных рецепторов в ЦНС и их чувствительность к антагонистам и агонистам значительно изменяются в условиях стресса [153]. В исследованиях, проведенных E. Darceq и B.L. Kieffer (2018) выявлено, что передача сигналов опиоидов тесно связана с эмоциональным состоянием и соответственно

меняется при стрессорных нагрузках.

К неопиоидным антиноцицептивным системам относятся различные специфические структурно-функциональные единицы, в частности, орексинергические нейроны латерального гипоталамуса [59], мезолимбико-кортикальные дофаминовые нейроны [158], on- и off-клетки ростральной вентромедиальной области продолговатого мозга [163] и холинергическая система спинного мозга [131].

Как было указано выше, стрессорные нагрузки у млекопитающих могут сопровождаться выраженными изменениями болевой чувствительности. В исследованиях на животных показано, что острое стрессорное воздействие на модели принудительного плавания в холодной воде вызывает увеличение болевого порога в тесте сдавливания задней лапы [14]. В работе Y. Du с соавт. (2022) на модели принудительного плавания мышей изучено влияние стресс-фактора различной интенсивности на функции опиоидной антиноцицептивной системы и болевую чувствительность в тесте отдергивания хвоста. Животные при этом демонстрировали развитие стресс-аналгезии, однако, изменения активности μ -опиоидных рецепторов зависели от силы стрессогенного воздействия. Другими авторами выявлено, что острая стрессорная нагрузка у крыс на модели 24-ч иммобилизации приводит к усилению перцептуального и эмоционального компонентов ноцицепции, проявляющемуся в снижении латентных периодов отведения хвоста и порога вокализации в ответ на болевое воздействие [2].

Изменения болевой чувствительности изучены также на разных моделях хронического стресса. В частности, обнаружено, что длительные умеренные стрессорные воздействия у крыс – ежедневная 4-ч иммобилизация в течение 8 суток – приводят к усилению перцепции болевых раздражителей со 2-х по 7-е сутки наблюдений, но ослаблению эмоционального компонента ноцицепции в поздние сроки исследования [44]. В экспериментах H. Imbe с соавт. (2006) также показано, что хронический иммобилизационный стресс у крыс на протяжении 40 дней вызывает усиление перцептуального компонента ноцицептивной

чувствительности, то есть, гипералгезию.

Противоположные результаты были получены в других исследованиях, направленных на изучение характера изменений болевой чувствительности млекопитающих при хронических стрессорных воздействиях. Например, на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса у крыс в течение 21 суток выявлено повышение толерантности животных к болевой стимуляции в тесте отдергивания хвоста, иллюстрирующее подавление ноцицептивной реакции [170]. М. Shi с соавт. (2010) обнаружено, что после хронического непредсказуемого мягкого стресса на протяжении 6 недель крысы характеризуются значительно более высокими порогами термической и механической чувствительности в тесте «горячая пластина» и тесте фон Фрея. Однако в другом исследовании моделирование хронического мягкого стресса в течение 5 недель не приводило к значимым изменениям болевых порогов при тепловом раздражении в тесте «горячая пластина» [104]. Необходимо отметить, что термический антиноцицептивный эффект морфина у стрессированных животных был менее выражен, чем в контроле, но усиливался при предварительном введении норадреналина. Полученные данные иллюстрируют изменения функциональной активности опиоидной антиноцицептивной системы в условиях хронического стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ К ОБЗОРУ ЛИТЕРАТУРЫ

Представленные в обзоре литературы данные свидетельствуют о том, что стресс и связанные с ним психосоматические заболевания являются одной из наиболее актуальных проблем современного общества. Формирование стресс-индуцированной патологии происходит вследствие нарушения тесного взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем организма. При этом важнейшими звеньями в организации стрессорных реакций служат симпатoadреналовый и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковый комплексы.

Особая роль в реализации стресс-ответа у млекопитающих играет иммунная система. Нарушения клеточного и гуморального иммунитета при стрессорных нагрузках являются одним из ведущих факторов развития патологических процессов, таких как воспаление и иммунодефицитные состояния различного генеза. Следует отметить, что частыми следствиями стрессорных воздействий являются сердечно-сосудистые и неврологические расстройства, эндокринные болезни, нарушения поведения и обмена веществ, гормональная дисфункция и другие. Доказано, что стрессогенные факторы могут вызывать разные, в том числе противоположные изменения болевой чувствительности. Существенно, что отрицательные последствия стрессорных нагрузок индивидуальны и во многом зависят от вида, длительности и интенсивности воздействия.

Несмотря на высокую актуальность и значительный интерес к изучению тонких механизмов, опосредующих нарушение физиологических функций у млекопитающих в состоянии стресса, многие вопросы в этой области остаются нерешенными. В доступной научной литературе недостаточно сведений об особенностях иммунных и гормональных показателей, а также параметров метаболизма при хронических стрессорных нагрузках разной длительности. Мало исследованы изменения болевой чувствительности млекопитающих после многократно повторяющихся воздействий различных стресс-факторов. Не определено наличие возможных взаимосвязей между перечисленными физиологическими показателями в условиях переменной стрессогенности.

Важно подчеркнуть, что в аспекте изучения стресс-реакций организма перспективным представляется использование моделей, предполагающих многократное, последовательное применение нескольких разных стрессоров. Именно такой подход к оценке характера изменений системной организации физиологических функций при хронических стрессорных нагрузках позволит наиболее корректно экстраполировать данные, полученные в исследованиях на животных в области стресса, на человека.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Условия содержания крыс

Эксперименты проведены на 50 крысах-самцах Вистар с массой тела $237,8 \pm 6,5$ г, в осенне-зимний период в светлое время суток. Особи в возрасте 2 месяцев были получены из ФГБУН НЦБМТ ФМБА питомник «Столбовая». После доставки в виварий животных содержали в «домашних» клетках стандартного размера ($450 \times 360 \times 160$ мм) по 4 особи в каждой, в условиях искусственного освещения (12 ч/свет – 12 ч/темнота) при температуре $20-22^{\circ}\text{C}$ в течение 5 дней. В качестве подстилочного материала в клетках использован Рехофикс МК 2000 (гранулят из стержневых початков кукурузы). Животные имели свободный доступ к воде и пище (корм экструдированный полнорационный для содержания мышей и крыс; ГОСТ Р 50258-92). В указанный выше период адаптации крысы ежедневно проходили процедуру хэндлинга – взятие в руки на протяжении 15 минут – для предупреждения развития стрессорной реакции на последующие экспериментальные манипуляции исследователя.

При проведении опытов руководствовались «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными Этической комиссией НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина (протокол №1 от 3.09.2005), требованиями Всемирного общества защиты животных (WSPA) и Европейской конвенции по защите экспериментальных животных. Исследование одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (протокол №2 от 13.02.2024).

2.2. Экспериментальная модель стрессорного воздействия

В качестве стрессорного воздействия у крыс была использована модель хронического непредсказуемого мягкого стресса [17, 219] с модификациями.

Данная экспериментальная модель включает в себя последовательное ежедневное предъявление разнообразных низкоинтенсивных стрессоров в течение 7 дней. К используемым стрессогенным факторам относились: наклон клетки 30° в течение 7 ч; дневное освещение (в вечернее, ночное и утреннее время) – 17 ч; загрязненная клетка (добавление 0,5 л воды в опилки) – 12 ч; питьевая депривация (удаление бутылки) – 12 ч; пустая бутылка – 12 ч; пищевая депривация (удаление корма) – 12 ч; тесная клетка ($300 \times 150 \times 150$ мм, 4 особи) – 12 ч; удаление опилок – 12 ч (Таблица 1).

Таблица 1 - Схема моделирования хронического непредсказуемого мягкого стресса [17, 219]

Воздействие	День недели						
	ПН	ВТ	СР	ЧТ	ПТ	СБ	ВСК
1. Наклон клеток 30°	10.00 – 17.00						
2. Дневное освещение	17.00 – 10.00						
3. Загрязненная клетка		10.00 – 10.00					
4. Питьевая депривация			10.00 – 22.00				
5. Пустая бутылка			22.00 – 10.00				
6. Пищевая депривация				10.00 – 10.00			
7. Тесная клетка					10.00 – 10.00		
8. Удаление опилок						10.00 – 10.00	

Преимуществами данного подхода являются снижение вероятности адаптации к однотипным эмоциогенным повреждающим воздействиям, отсутствие предъявления болевого или иных раздражителей, часто применяемых в других моделях экспериментального стресса.

В предыдущих работах на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса обнаружено, что указанное воздействие оказывает влияние на морфофункциональные характеристики нейронов, глиальных клеток, астроцитов и олигодендроцитов, а также клеток микроглии головного мозга [117]. Также установлено, что данная стрессорная нагрузка у животных приводит к развитию ангедонии и формированию депрессивного состояния [202]. Выявлено, что это воздействие вызывает изменения концентрации ряда цитокинов в крови и структурах головного мозга, а также снижение температурного и механического порогов болевой чувствительности [234].

Приведенные выше факты служат подтверждением формирования стрессорного состояния у крыс на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса.

2.3. Дизайн эксперимента

Крысы были распределены на 6 групп в соответствии с условиями эксперимента: (1) интактные / контроль / стресс; (2) длительность наблюдений – 7, 14, 21 и 28 дней (Таблица 2).

Животные контрольной группы (группа 2) находились в «домашних» клетках по 4 особи в каждой при температуре 20-22°C, в искусственных условиях освещения (9:00-21:00 – свет, 21:00-9:00 – темнота), на стандартном пищевом рационе питания. Длительность наблюдений за ними составляла 4 недели. У контрольных крыс исходно и еженедельно до окончания эксперимента измеряли массу тела (см. раздел 2.4.).

Таблица 2 - Экспериментальные группы крыс

Группы (n)	Экспериментальные условия
1 (n=10)	Интактные особи
2 (n=8)	Контрольная группа
3 (n=8)	Стресс – 1 неделя
4 (n=8)	Стресс – 2 недели
5 (n=8)	Стресс – 3 недели
6 (n=8)	Стресс – 4 недели

Крыс опытных групп (группы 3-6) в течение 1, 2, 3 и 4 недель подвергали семидневным циклам последовательно чередующихся низкоинтенсивных стрессогенных воздействий на модифицированной модели хронического непредсказуемого мягкого стресса (см. раздел 2.2.).

У животных опытных групп исходно и по окончании наблюдений измеряли массу тела (см. раздел 2.4.), а также оценивали перцептуальный и эмоциональный компоненты ноцицептивной чувствительности (см. раздел 2.5.). Крыс декапитировали под легким наркозом с использованием стабилизированного эфира (ОАО «Медхимпром», Россия) из расчета 3-5 мл на 1 кг массы тела [201] через смоченную марлевую салфетку. При декапитации получали образцы крови для следующих исследований: измерения уровня глюкозы (см. раздел 2.6.); твердофазного иммуноферментного анализа концентрации кортикостерона (см. раздел 2.7.) и уровня цитокинов (см. раздел 2.8.); определения функциональной активности системы комплемента (см. раздел 2.9.).

Интактных крыс (группа 1) после периода адаптации к условиям вивария взвешивали и затем декапитировали под легким эфирным наркозом с получением образцов крови для проведения следующих исследований: измерения уровня глюкозы (см. раздел 2.6.); твердофазного иммуноферментного анализа концентрации кортикостерона (см. раздел 2.7.) и уровня цитокинов (см. раздел 2.8.); определения функциональной активности системы комплемента (см. раздел 2.9.). Статистический анализ на достоверность изменений указанных показателей в

условиях хронического стресса проведен по сравнению с соответствующими значениями у интактных животных.

Обобщенная схема, иллюстрирующая последовательность выполнения исследований с крысами разных экспериментальных групп, приведена на Рисунке 1.

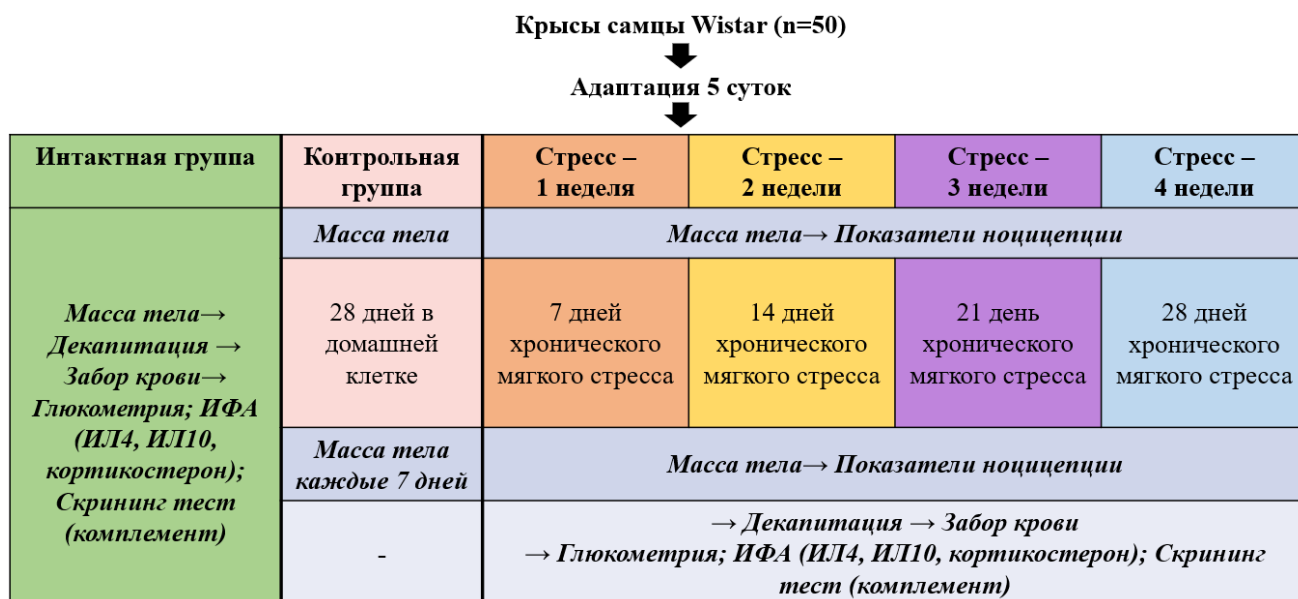


Рисунок 1 - Схема эксперимента

2.4. Определение массы тела крыс

Для измерения массы тела крыс всех экспериментальных групп использовали ветеринарные весы для взвешивания грызунов (арт.9203.10; Soehnle Professional, Германия) с ценой деления 1 грамм.

2.5. Определение ноцицептивной чувствительности животных

Изучены перцептуальный и эмоциональный компоненты ноцицепции у крыс. Животных помещали в стандартные пластиковые пеналы (235x65x70 мм); адаптационный период составлял 30 минут, после чего определяли показатели

ноцицептивных реакций. С учетом того, что болевые пороги у грызунов подвержены циркадным колебаниям, оценку ноцицепции проводили в одно и то же время, в светлое время суток (13:00 – 16:00).

2.5.1. Анализ перцептуального компонента ноцицепции

Оценку перцептуального компонента ноцицепции у крыс осуществляли по латентному периоду реакции отведения хвоста (ЛПРОХ) в ответ на светотермальное раздражение методом «tail-flick» [75, 125]. Исследование проведено на аппарате Tail-Flick Analgesia Meter 0104-301V (Columbus Instruments, США), который позволяет предъявлять светотермальный раздражитель в автоматическом и ручном режимах. Индивидуальный пластиковый пенал устанавливали на площадку прибора. Животных фиксировали в горизонтальном положении с выведенным наружу хвостом, который располагали в специальное углубление. По центру углубления находилась лампочка для подачи светотермального раздражения. Включение лампочки осуществлялось путем нажатия на педаль прибора. Индикатором корректного положения хвоста животного служило загорание зеленого светодиода на корпусе прибора. Осуществляли три предъявления светотермального раздражителя. Для снижения риска повреждения тканей и исключения адаптации термонцицепторов раздражение подавали с интервалом 3-5 минут на разные участки кожи хвоста крысы. Время отдергивания хвоста крысы отмечалось автоматически на приборной панели (точность до 0,1 сек). Для каждого животного рассчитывали среднее значение ЛПРОХ (сек).

2.5.2. Анализ эмоционального компонента ноцицепции

Эмоциональный компонент ноцицепции у крыс определяли по порогу вокализации (ПВ, мА) в ответ на электрокожное раздражение хвоста по методу,

разработанному в НИИ нормальной физиологии имени П.К. Анохина (Абрамов Ю.Б., Козлов А.Ю., 2005). Исследование проведено на электростимуляторе SEN-3201 (*Nihon Kohden*, Япония). Крыс помещали в индивидуальные пластиковые пеналы и фиксировали в горизонтальном положении с выведенным наружу хвостом. На хвост животного надевали 2 металлических кольцевых электрода из медной проволоки на расстоянии 2,5-3,0 см друг от друга, через которые подавали электрокожное раздражение. Перед подачей сигнала в область наложения электродов наносили электродный контактный гель (Унигель, ООО «Гельтек-Медика», Россия). Параметры электростимуляции: частота – 10 Гц, длительность импульса – 0,5 мс. Силу тока постепенно увеличивали от 0,25 до 1 мА до появления реакции вокализации (писка) у крыс. После этого прекращали подачу тока; полученные показатели фиксировались на приборной панели.

2.6. Определение концентрации глюкозы в крови крыс

Часть полученной при декапитации крыс крови использовали для проведения глюкометрии (ммоль/л) при помощи глюкометра Contour TS (Bayer, Швейцария). В образцы крови помещали заборный кончик фирменных тест-полосок Contour TS (Bayer, Швейцария) для сбора необходимого количества анализируемого материала. Концентрация глюкозы в изучаемой пробе отображалась на экране прибора.

2.7. Получение сыворотки крови

Часть крови, полученной при декапитации крыс, собирали в пробирки S-Monovette 4,0 мл с КЗ ЭДТА с сепарационными гранулами (S-Monovette® SARSTEDT, Германия), отстаивали в течение 30 минут при температуре +22°C и центрифугировали со скоростью 3000 об/мин в течение 10 минут при температуре

+4°C (MULTI CENTRIFUGE CM 6M, ELMi; Латвия). Пробы сыворотки помещали в пробирки Эппендорф в объеме 0,5 мл, немедленно замораживали в жидком азоте и хранили в низкотемпературной холодильной камере при -70°C .

2.8. Определение концентрации кортикостерона в сыворотке крови крыс

Определение концентрации кортикостерона в сыворотке крови у крыс проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа согласно протоколу фирмы-производителя. В день проведения анализа пробы сыворотки крови животных доводили до комнатной температуры. Далее в лунки полистиролового планшета с иммобилизованными моноклональными антителами к кортикостерону вносили посадочный буфер (раствор для разведения образцов, ReadReagentPreparation) и аликвоты сывороточных образцов. Планшеты инкубировали при температуре 37°C в течение 1 ч. После инкубации содержимое лунок удаляли декантированием и 3-кратно обрабатывали промывочным раствором. После этой процедуры во все лунки вносили рабочий раствор реагента для детекции и инкубировали при температуре 37°C в течение 30 минут со встряхиванием. По окончании инкубации лунки подвергали 5-кратной промывке. Далее вносили субстратную смесь; панели инкубировали в течение 20 минут в зависимости от степени развития окраски. По окончании инкубации для остановки ферментной реакции во все лунки добавляли «Стоп-реагент» с последующим встряхиванием панели на шейкере в течение 5 минут. По окончании иммуноферментного анализа оптическую плотность раствора в лунках измеряли на приборе HTI ImmunoChem-2100 (Microplate reader; США) при 450 нм, референс – 620 нм. Уровень кортикостерона в сыворотке измеряли с помощью коммерческого набора ELISA (USCN-LIFE™, Китай). Содержание кортикостерона (нг/мл) определяли по калибровочным графикам, используя стандартные пробы кортикостерона со стандартными концентрациями.

2.9. Определение концентрации цитокинов в сыворотке крови крыс

Определение концентрации цитокинов в сыворотке крови у крыс проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа согласно протоколу фирмы-производителя. В день проведения анализа пробы сыворотки крови животных доводили до комнатной температуры. Далее в лунки полистиролового планшета с иммобилизованными моноклональными антителами к соответствующему цитокину вносили посадочный буфер (раствор для разведения образцов, РРО) и аликвоты сывороточных образцов. Планшеты инкубировали при температуре 37°C в течение 2 ч. После инкубации содержимое лунок удаляли декантированием и 3-кратно промывали фосфатно-солевым буферным раствором (ФСБ). Повторное инкубирование проводили при температуре 37°C в течение 1 ч со встряхиванием. По окончании инкубации лунки подвергали 3-кратной промывке. После этой процедуры во все лунки вносили раствор конъюгата и инкубировали при температуре 37°C в течение 30 минут со встряхиванием; по окончании инкубации лунки повторно промывали фосфатно-солевым буферным раствором с твином (ФСБ-Т). Далее вносили субстратную смесь, и панели инкубировали в течение 20 минут в зависимости от степени развития окраски. По окончании инкубации для остановки ферментной реакции во все лунки добавляли «Стоп-реагент» с последующим встряхиванием панели на шейкере в течение 5 минут. По окончании иммуноферментного анализа оптическую плотность раствора в лунках измеряли на приборе НТІ ImmunoChem-2100 (Microplate reader; США) при 450 нм, референс – 620 нм. Концентрацию цитокинов ИЛ-4 и ИЛ-10 в крови крыс измеряли с помощью коммерческих наборов для анализа цитокинов (АО «Вектор-Бест», Россия). Содержание ИЛ-4 и ИЛ-10 (пг/мл) определяли по калибровочным графикам, используя стандартные пробы цитокинов со стандартными концентрациями.

2.10. Определение функциональной активности системы комплемента крови у крыс

Функциональную активность системы комплемента (классический путь) в сыворотке крови крыс определяли с помощью соответствующего скрининг-теста в реакции комплемент-зависимого лизиса эритроцитов человека [23] на фотометре для иммуноферментного анализа Maltiscan MCC (Labsystem, Финляндия). В день проведения анализа пробы сыворотки крови животных доводили до комнатной температуры. В лунки 96-луночных плоскодонных планшетов для иммуноферментного анализа к 12,5 мкл сыворотки крови добавляли 37,5 мкл буфера VBS2+ и 50 мкл 1% раствора эритроцитов человека с группой А, сенсibilизированных моноклональными анти-А IgM антителами. Тщательно перемешивали и инкубировали в течение 15 минут при 37°C при постоянном перемешивании. Реакцию комплемент-зависимого лизиса эритроцитов оценивали турбидиметрически по снижению оптической плотности суспензии при длине волны 620 нм; степень лизиса эритроцитов (%) в опытных пробах определяли по калибровочному графику.

2.11. Статистическая обработка данных

Результаты обрабатывали с помощью статистических и аналитических методов с использованием пакетов программ STATISTICA 12.0, Microsoft Office Excel 2021. Проверку выборок данных на нормальность распределения проводили с помощью описательной статистики, графически и с применением статистических критериев (тест Шапиро-Уилка). В связи с тем, что групповые выборки данных не подчинялись закону нормального распределения, для проведения статистического анализа применяли непараметрические методы.

При необходимости множественного межгруппового сравнения использовали дисперсионный анализ – критерий Фридмана для зависимых

переменных, критерий Краскела-Уоллиса для независимых переменных. При наличии статистически значимых различий по указанным критериям применяли апостериорный попарный анализ межгрупповых различий изучаемых показателей с помощью T -критерия Вилкоксона для зависимых переменных и U -критерия Манна-Уитни для независимых групп. Минимальный принятый уровень значимости наблюдающихся отличий составлял 5%. Числовые данные в группах представляли в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей (25 и 75% соответственно).

Корреляционный анализ внутригрупповых связей между исследуемыми параметрами проводили с применением непараметрического коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Выявляли положительные и отрицательные корреляции, свидетельствующие о наличии прямой или обратной связи соответственно. Корреляционные взаимосвязи считались достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В процессе изучения характера изменений физиологических функций у крыс в разные временные периоды многократных стрессорных воздействий на модели хронического непредсказуемого мягкого стресса проанализированы следующие параметры:

- концентрация кортикостерона в сыворотке крови (раздел 3.1);
- масса тела (раздел 3.2);
- концентрация глюкозы в крови (раздел 3.3);
- концентрация цитокинов в сыворотке крови (раздел 3.4);
- функциональная активность системы комплемента в сыворотке крови (раздел 3.5);
- ноцицептивная чувствительность – перцептуальный и эмоциональный компоненты (раздел 3.6);
- корреляционные связи между перечисленными показателями (раздел 3.7).

Исследование проведено на 50 крысах-самцах Wistar. Животных разделили на следующие 6 групп:

1. Интактная группа ($n=10$);
2. Контрольная группа → 28 дней в домашней клетке ($n=8$);
3. «Стресс – 1 неделя» → 7 дней стрессогенных воздействий ($n=8$);
4. «Стресс – 2 недели» → 14 дней стрессогенных воздействий ($n=8$);
5. «Стресс – 3 недели» → 21 день стрессогенных воздействий ($n=8$);
6. «Стресс – 4 недели» → 28 дней стрессогенных воздействий ($n=8$).

Сравнительный статистический анализ физиологических показателей проведен между крысами следующих экспериментальных групп:

- масса тела
 - внутри группы контроля в исходном состоянии и по окончании еженедельных наблюдений;

- внутри группы контроля между показателями еженедельных наблюдений;
 - внутри каждой группы стресса в исходном состоянии и по окончании наблюдений;
 - между группами стресса;
 - между группами стресса и соответствующими еженедельными показателями в группе контроля.
- концентрация кортикостерона, глюкозы и цитокинов, функциональная активность системы комплемента
 - между интактной группой и группами стресса;
 - между группами стресса.
 - показатели ноцицепции
 - внутри групп стресса в исходном состоянии и по окончании наблюдений;
 - между группами стресса.

3.1. Концентрация кортикостерона в сыворотке крови крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности

В данном разделе представлены результаты твердофазного иммуноферментного анализа концентрации кортикостерона в сыворотке крови в разные временные периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса [35]. Сравнительный анализ содержания кортикостерона у животных, подвергнутых многократным чередующимся стрессорным нагрузкам, проводили по отношению к значениям у интактных особей. Цифровые данные, отражающие уровень кортикостерона в сыворотке крови у крыс разных экспериментальных групп, представлены в Таблице 3.

Таблица 3 – Концентрация кортикостерона в сыворотке крови у интактных крыс, а также у животных в условиях хронического стресса разной длительности (нг/мл, Me (Q1; Q3))

Экспериментальные группы	Кортикостерон
Интактные особи	1010,0 (853,3; 1693,3)
Стресс – 1 неделя	205,0 (143,3; 320,0) ^^^
Стресс – 2 недели	656,7 (396,6; 840,0) ^\$\$
Стресс – 3 недели	983,3 (458,3; 1433,3) §
Стресс – 4 недели	691,6 (516,7; 818,3) \$\$\$
Примечание – Жирным шрифтом обозначены статистически значимые межгрупповые различия.	

Установлено, что концентрация кортикостерона в крови животных через 1 неделю многократных стрессорных воздействий была значительно меньше, чем у интактных особей (на 79,7%, $p < 0,0005$; Рисунок 2).

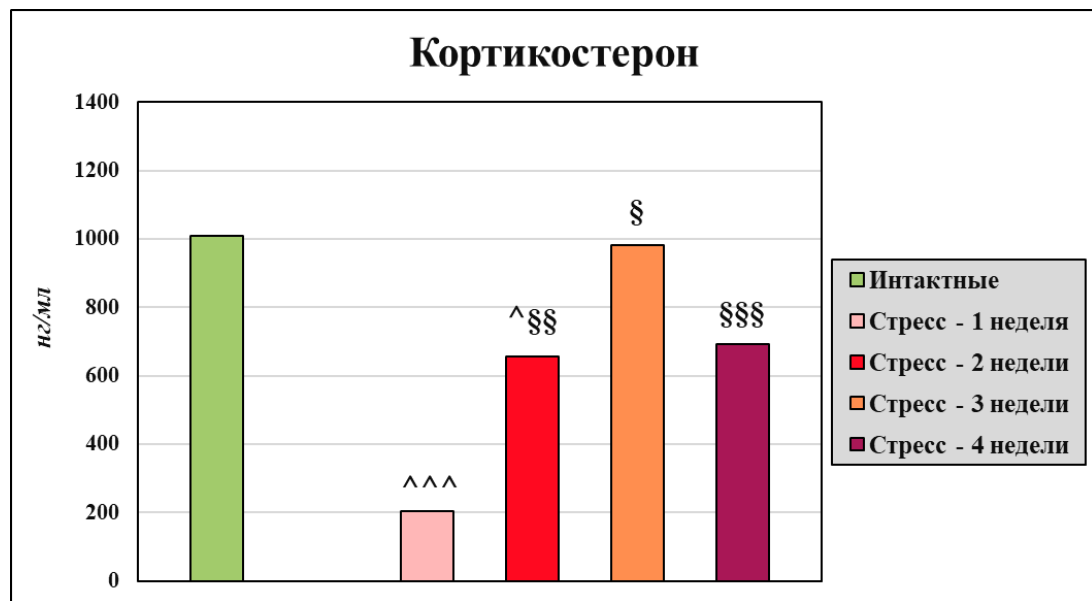


Рисунок 2 - Концентрация кортикостерона в сыворотке крови у интактных крыс, а также у животных в условиях хронического стресса разной длительности (нг/мл; Me). Здесь и в Таблице 3: ^ $p < 0,05$ и ^^ $p < 0,0005$ по сравнению с интактными крысами; § $p < 0,05$ и \$\$ $p < 0,005$ и \$\$\$ $p < 0,0005$ по сравнению с группой «Стресс – 1 неделя»

К концу 2-й недели наблюдений уровень кортикостерона в сыворотке крови стрессированных крыс оставался ниже такового у интактных особей (на 35,0%,

$p < 0,05$). Однако, в этот период анализируемый показатель был больше, чем после 1-й недели повторных стрессорных нагрузок (на 220,3%, $p < 0,005$).

Через 3 и 4 недели хронического мягкого стресса наблюдался выраженный рост уровня кортикостерона в крови животных по сравнению с показателями, отмеченными после 1-й недели воздействий (на 379,6% [$p < 0,05$] и 237,4% [$p < 0,0005$] соответственно). В указанные сроки данный показатель статистически не отличался от значений у интактных особей.

Следовательно, хронический непредсказуемый мягкий стресс у крыс сопровождается снижением концентрации кортикостерона в сыворотке крови, наиболее выраженным к окончанию 1-й недели наблюдений, с последующим восстановлением данного показателя после 3-й и 4-й недель повторяющихся стрессорных нагрузок.

Полученные данные иллюстрируют сложные колебания уровня одного из типичных стресс-гормонов в крови – кортикостерона – у животных в разные временные периоды ежедневных чередующихся стрессорных воздействий.

3.2. Масса тела крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности

В данном разделе представлены результаты изучения массы тела крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса [34]. Полученные данные анализировались в разные временные периоды повторных стрессорных нагрузок по отношению к исходным показателям, сравнивались с абсолютными значениями и их изменениями у контрольных животных. Цифровые данные, иллюстрирующие массу тела у особей разных экспериментальных групп, представлены в Таблице 4.

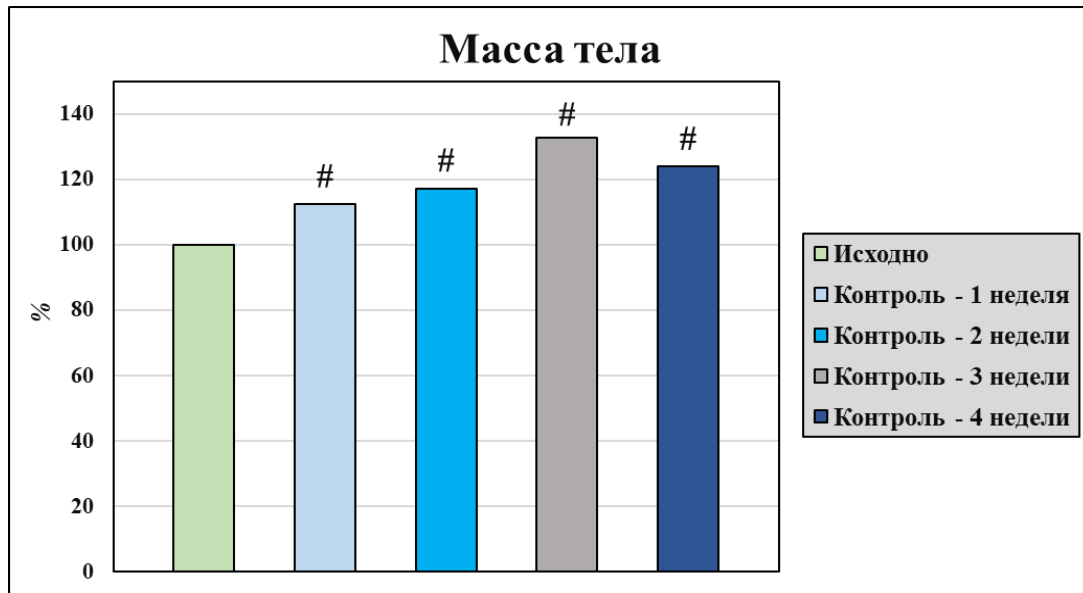
Таблица 4 – Масса тела крыс разных экспериментальных групп в контроле и после хронического стресса разной длительности (г, Me (Q1; Q3))

Экспериментальные условия	Исходно	По окончании периода наблюдений
Контроль – 1 неделя	240 (226; 257)	270 (250; 276) #
Контроль – 2 недели		281,5 (279,5; 286) #
Контроль – 3 недели		318,5 (313; 341) #^{\$\$}^Δ
Контроль – 4 недели		297,5 (283; 306) #[•]
Стресс – 1 неделя	272,5 (195; 289)	275 (235; 290)
Стресс – 2 недели	244 (233; 250)	272 (263; 282,5) #
Стресс – 3 недели	233 (215,5; 245)	278,5 (256; 292) **[#]
Стресс – 4 недели	216 (207; 225,5)	285 (279; 298) #
Примечание – ** $p < 0,005$ по сравнению с контролем; # $p < 0,05$ по сравнению с соответствующими показателями в исходном состоянии; \$ $p < 0,05$ и \$\$ $p < 0,005$ по сравнению с показателями «Контроль – 1 неделя»; ^Δ $p < 0,05$ по сравнению с показателями «Контроль – 2 недели»; [•] $p < 0,05$ по сравнению с показателями «Контроль – 3 недели». Жирным шрифтом обозначены статистически значимые межгрупповые различия.		

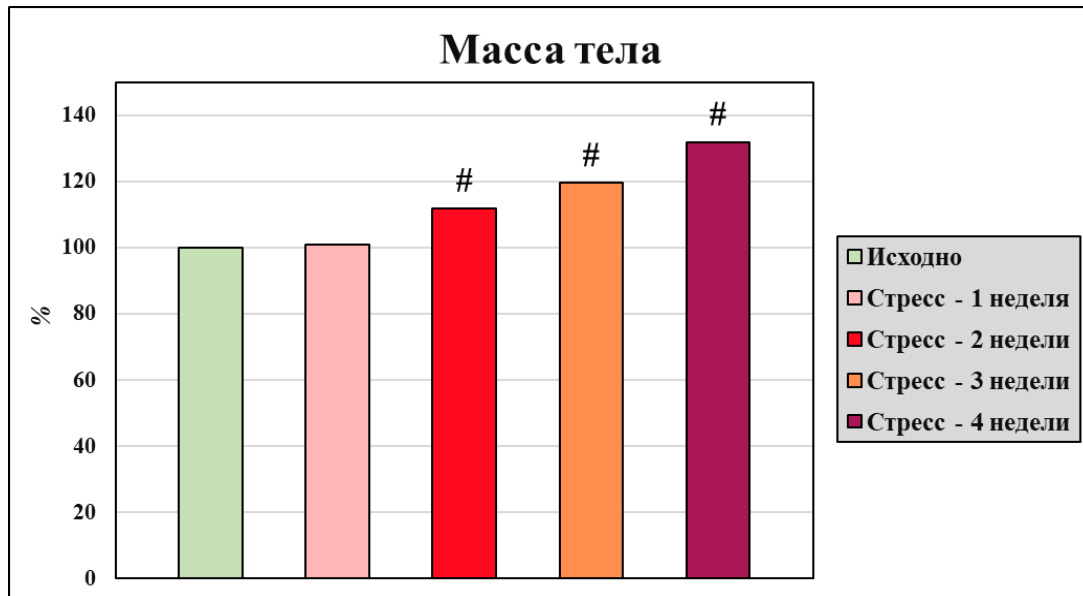
Показано, что контрольные крысы характеризуются значимым ростом массы тела через 1, 2, 3 и 4 недели исследования по сравнению с исходным уровнем (на 12,5, 17,3, 32,7 и 24,0% соответственно; $p < 0,05$, Рисунок 3А).

В ходе межгруппового анализа данного показателя у животных, не подвергавшихся стрессорным нагрузкам, получены следующие результаты. Масса тела крыс, содержащихся в стандартных условиях на протяжении 2, 3 и 4 недель, была значимо больше таковой по окончании 1-й недели (на 4,2% [$p < 0,05$], 17,9% [$p < 0,005$] и 10,2% [$p < 0,05$] соответственно). Сходные различия обнаружены между значениями у контрольных особей по окончании 3-й и 2-й недель наблюдений (превышение на 13,1%, $p < 0,05$).

Продемонстрировано, что масса тела крыс через 1 неделю после начала моделирования хронического непредсказуемого мягкого стресса практически не отличается от исходной. В последующие периоды – через 2, 3 и 4 недели многократных стрессорных воздействий – данный показатель превышал исходные значения на 11,9, 19,5 и 31,9% соответственно ($p < 0,05$, Рисунок 3Б).



А



Б

Рисунок 3 - Показатели прироста массы тела у контрольных крыс, содержащихся в виварии на протяжении 4-х недель (А), а также у животных в условиях хронического стресса разной длительности (Б) (в процентах от исходного уровня, 100%). # $p < 0,05$ по сравнению с соответствующими показателями в исходном состоянии

При межгрупповом анализе статистически значимых отличий массы тела крыс, подвергнутых чередующимся стрессорным нагрузкам, в разные временные точки наблюдений не выявлены. Сравнительный анализ массы тела животных в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности с соответствующими контрольными значениями показал следующее. К окончанию 3-й недели наблюдений масса тела стрессированных крыс была на 12,6% меньше

показателя в группе контроля ($p < 0,005$). Статистически значимых отличий данного показателя через 1, 2 и 4 недели многократных стрессорных нагрузок от контрольных параметров не обнаружено.

Таким образом, крысы, подвергнутые многократным чередующимся стрессорным воздействиям в течение 1 недели, характеризуются отсутствием наблюдающегося в норме прироста массы тела по сравнению с исходным значением. В другие временные периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса – 2, 3 и 4 недели – темпы роста животных ниже по сравнению с контролем. Масса тела крыс к окончанию 3-й недели повторяющихся стрессорных нагрузок меньше таковой у контрольных особей.

3.3. Уровень глюкозы в крови крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности

В данном разделе представлены результаты изучения уровня глюкозы в крови животных в разные временные периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса [35]. Сравнительный анализ концентрации глюкозы у крыс, подвергнутых многократным чередующимся стрессорным нагрузкам, проводили по отношению к значениям у интактных особей. Цифровые данные, отражающие содержание глюкозы у крыс разных экспериментальных групп, представлены в Таблице 5.

Таблица 5 - Концентрация глюкозы в крови у интактных крыс, а также у животных в условиях хронического стресса разной длительности (ммоль/л; Ме (Q1; Q3))

Экспериментальные условия	Глюкоза
Интактные особи	6,2 (5,2; 6,9)
Стресс – 1 неделя	6,6 (6,2; 6,8)
Стресс – 2 недели	7,2 (6,8; 8,3) ^{^§}
Стресс – 3 недели	6,1 (5,4; 6,8) [▼]
Стресс – 4 недели	6,2 (5,9; 6,6) [▼]

Примечание – Жирным шрифтом обозначены статистически значимые межгрупповые различия.

Обнаружено, что концентрация глюкозы в крови крыс через 1 неделю после начала моделирования хронического непредсказуемого мягкого стресса практически не отличается от значений у интактных особей (Рисунок 4).

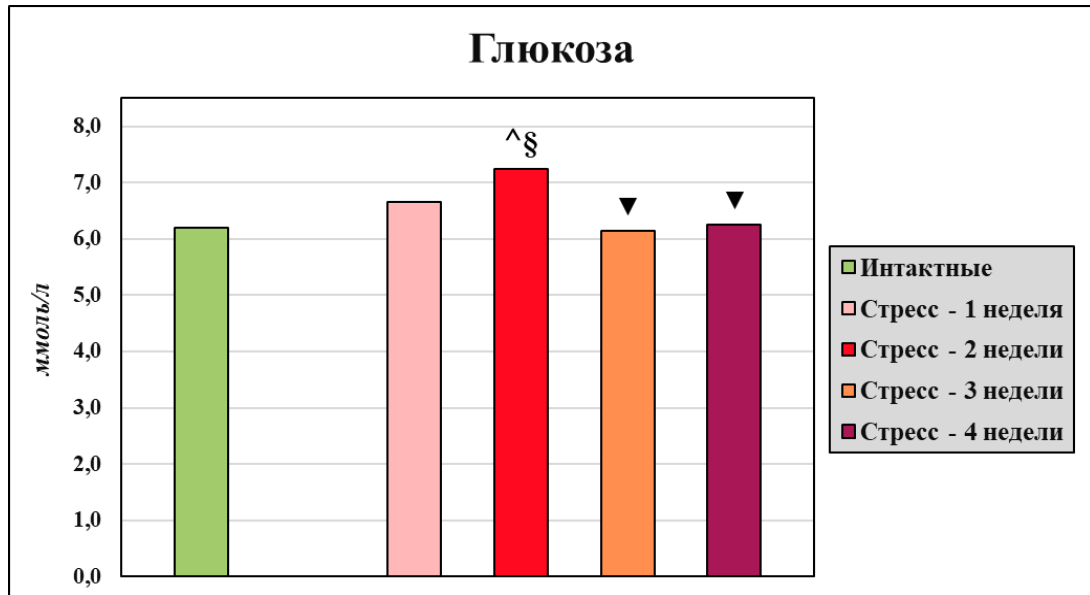


Рисунок 4 - Концентрация глюкозы в крови у интактных крыс, а также у животных в условиях хронического стресса разной длительности (ммоль/л; Ме). Здесь и в Таблице 5: [^] $p < 0,05$ по сравнению с интактными животными; [§] $p < 0,05$ по сравнению с группой «Стресс – 1 неделя»; ▼ $p < 0,05$ по сравнению с группой «Стресс – 2 недели»

К окончанию 2-й недели повторяющихся стрессорных воздействий анализируемый показатель возрастал и превышал таковой на предыдущей стадии наблюдений (на 9,0%, $p < 0,05$). В этот временной период хронического стресса концентрация глюкозы в крови крыс была больше, чем у интактных животных (на 16,9%, $p < 0,05$).

В ходе межгруппового анализа выявлено, что содержание глюкозы у крыс через 3 и 4 недели хронического стресса снижалось, приближаясь к контрольному уровню, и было меньше соответствующего параметра в конце 2-й недели воздействий: на 15,2% и 13,8% соответственно ($p < 0,05$).

Таким образом, моделирование хронического непредсказуемого мягкого стресса у крыс сопровождается увеличением уровня глюкозы к окончанию 2-й

недели многократных воздействий, но не через 1, 3 или 4 недели после начала наблюдений.

3.4. Концентрация цитокинов в сыворотке крови крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности

В данном разделе представлены результаты твердофазного иммуноферментного анализа уровня цитокинов – ИЛ-4 и ИЛ-10 – в сыворотке крови крыс в разные временные периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса [36]. Сравнительный анализ показателей цитокинового профиля крови у животных, подвергнутых многократным чередующимся стрессорным воздействиям, проводили по отношению к значениям у интактных особей. Цифровые данные, отражающие концентрацию ИЛ-4 и ИЛ-10 у животных разных экспериментальных групп, представлены в Таблице 6.

Таблица 6 - Концентрация цитокинов в сыворотке крови у интактных крыс, а также у животных в условиях хронического стресса разной длительности (пг/мл, Me (Q1; Q3))

Экспериментальные условия	Цитокины	
	ИЛ-4	ИЛ-10
Интактные особи	2,18 (2,18; 2,38)	4,03 (2,90; 7,26)
Стресс – 1 неделя	1,19 (0,73; 2,18)	7,89 (5,53; 11,58)
Стресс – 2 недели	1,16 (0,66; 1,65) ^	10,45 (7,99; 10,55) ^^
Стресс – 3 недели	0,57 (0,24; 0,84)	9,76 (9,35; 11,05) ^^
Стресс – 4 недели	0,60 (0,36; 1,14) ^	9,03 (8,39; 10,89) ^^
Примечание – Жирным шрифтом обозначены статистически значимые межгрупповые различия.		

Установлено, что хроническая стрессорная нагрузка у крыс приводит к снижению уровня ИЛ-4 в сыворотке крови по сравнению со значениями у

интактных особей: через 1 неделю – на 45,5% (статистически незначимо), через 2 недели – на 47,0% ($p < 0,05$), через 3 недели – на 73,8% (статистически незначимо), через 4 недели – на 72,4% ($p < 0,05$; Рисунок 5А).

Обнаружено, что хронический непредсказуемый мягкий стресс у крыс сопровождается выраженным ростом концентрации ИЛ-10 в периферической крови. Повышение уровня ИЛ-10 выявлено уже через 1 неделю (на 95,6%, статистически незначимо) и впоследствии – через 2 недели наблюдений (на 159,2%, $p < 0,005$). Через 3 и 4 недели повторных стрессорных нагрузок содержание ИЛ-10 несколько снижалось по сравнению с предыдущим периодом, оставаясь больше такового у интактных особей – на 142,0 и 124,0% соответственно ($p < 0,005$; Рисунок 5Б).

При межгрупповом анализе статистически значимых различий уровня изученных цитокинов в сыворотке крови крыс, подвергнутых чередующимся стрессорным нагрузкам, в разные временные точки наблюдений не выявлены.

Таким образом, хронический непредсказуемый мягкий стресс у крыс сопровождается разнонаправленными изменениями концентрации цитокинов в сыворотке крови по сравнению со значениями у интактных животных. В указанных экспериментальных условиях выявлено снижение уровня ИЛ-4 во все временные периоды наблюдений, статистически значимо – к окончанию 2-й и 4-й недель многократных стрессорных воздействий. Содержание ИЛ-10 демонстрирует тенденцию к росту уже после 1-й недели стрессорных нагрузок, выражено превышая соответствующий показатель у интактных особей через 2, 3 и 4 недели после начала наблюдений.

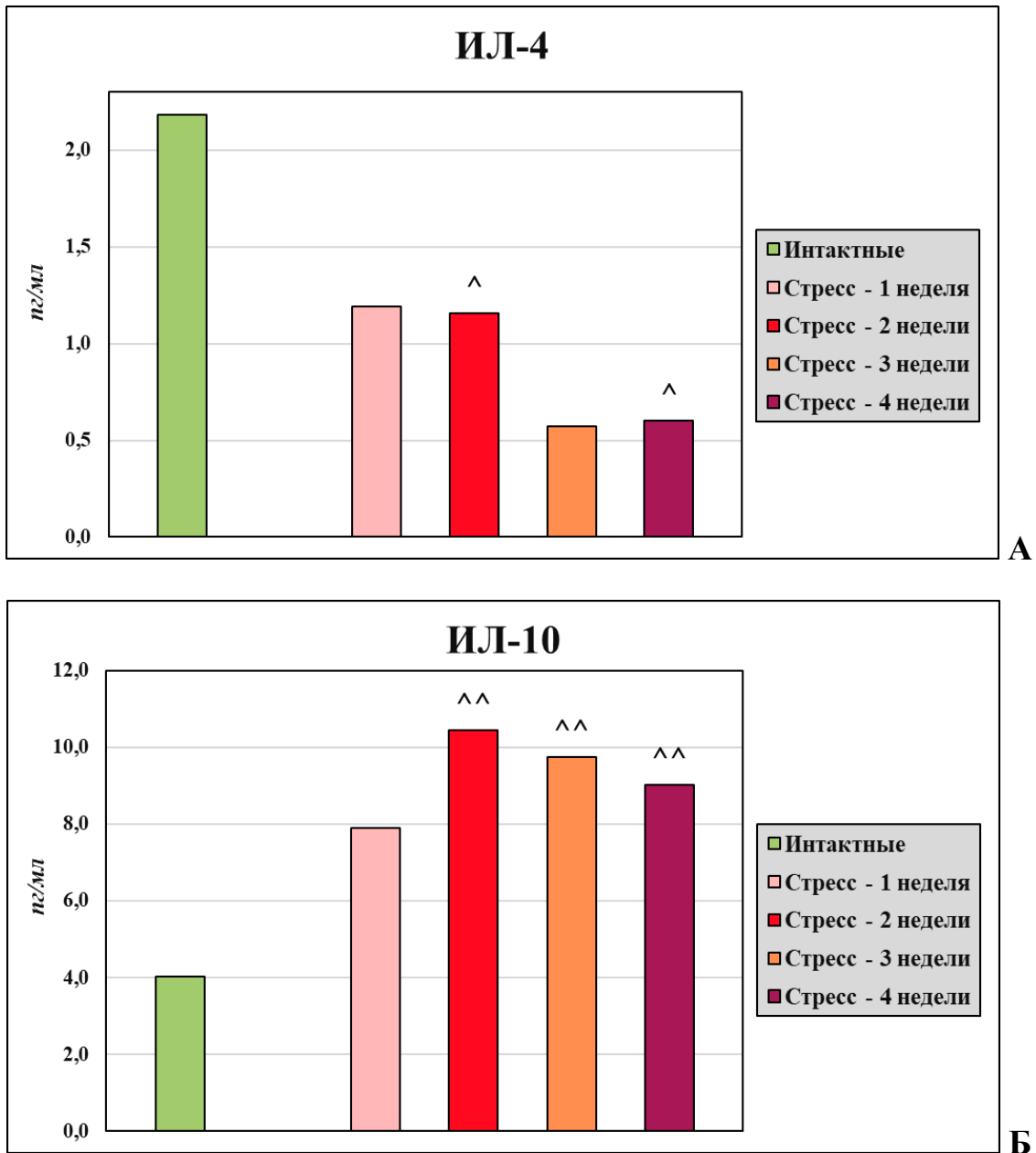


Рисунок 5 - Концентрация ИЛ-4 (А) и ИЛ-10 (Б) в сыворотке крови у интактных крыс, а также у животных в условиях хронического стресса разной длительности (пг/мл; Ме). Здесь и в Таблице 6: [^] $p < 0,05$ и ^{^^} $p < 0,005$ по сравнению с интактными животными

3.5. Функциональная активность системы комплемента в сыворотке крови крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности

В данном разделе представлены результаты оценки функциональной

активности системы комплемента в сыворотке крови крыс в разные временные периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса [36]. Сравнительный анализ изучаемых показателей у животных, подвергнутых многократным чередующимся стрессорным воздействиям, проводили по отношению к значениям у интактных особей. Цифровые данные, отражающие комплемент-зависимый процент лизиса эритроцитов у особей разных экспериментальных групп, представлены в Таблице 7.

Таблица 7 - Функциональная активность системы комплемента в сыворотке крови у интактных крыс, а также у животных в условиях хронического стресса разной длительности (% лизиса эритроцитов; Me (Q1; Q3))

Экспериментальные условия	% лизиса эритроцитов
Интактные особи	75,0 (56,0; 78,0)
Стресс – 1 неделя	87,5 (75,0; 92,0)
Стресс – 2 недели	88,0 (86,0; 92,0)[^]
Стресс – 3 недели	85,0 (71,5; 92,0)
Стресс – 4 недели	77,0 (69,0; 81,5)[▼]
Примечание – Жирным шрифтом обозначены статистически значимые межгрупповые различия.	

Установлено, что функциональная активность системы комплемента у крыс через 1 неделю моделирования хронического непредсказуемого мягкого стресса возрастает лишь незначительно по сравнению с таковым у интактных особей (на 16,6%, $p > 0,05$; Рисунок 6).

К концу 2-й недели стрессорных воздействий анализируемый параметр превышал контрольный уровень на 17,3% ($p < 0,05$). Однако через 3 и 4 недели многократных стрессорных нагрузок этот показатель постепенно снижался, приближаясь к значениям у интактных животных.

В ходе межгруппового анализа обнаружено, что комплемент-зависимый процент лизиса эритроцитов у крыс к окончанию 4-й недели наблюдений был

значимо меньше такового, отмеченного через 2 недели чередующихся стрессорных воздействий (на 14,3%, $p < 0,05$).



Рисунок 6 - Функциональная активность системы комплемента у интактных крыс, а также у животных в условиях хронического стресса разной длительности (%; Me). Здесь и в Таблице 7: $^{\wedge}p < 0,05$ по сравнению с интактными животными; $^{\vee}p < 0,05$ по сравнению с группой «Стресс – 2 недели»

Таким образом, функциональная активность системы комплемента крови у крыс характеризуется тенденцией к увеличению уже после 1-й недели многократных стрессорных нагрузок, значимо превышая уровень у интактных особей через 2 недели после начала наблюдений. В последующие временные периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса – 3 и 4 недели – данный показатель снижается, приближаясь к контрольным значениям.

3.6. Ноцицептивная чувствительность у крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности

В данном разделе представлены результаты изучения ноцицептивной чувствительности животных в разные временные периоды хронического

непредсказуемого мягкого стресса [34]. Сравнительный анализ показателей эмоционального (ПВ) и перцептуального компонентов (ЛПРОХ) ноцицепции у крыс, подвергнутых многократным чередующимся стрессорным воздействиям, проводили по отношению к исходным значениям. Цифровые данные, отражающие анализируемые параметры болевой чувствительности у особей разных экспериментальных групп, представлены в Таблицах 8 и 9.

Таблица 8 - Значения показателя эмоционального компонента ноцицепции крыс (ПВ, мА) в исходном состоянии и в разные временные периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса (Me (Q1; Q3))

Экспериментальные группы	Исходно	По окончании периода воздействий
Стресс – 1 неделя	0,8 (0,6; 0,8)	0,6 (0,4; 0,6) #
Стресс – 2 недели	0,6 (0,6; 0,8)	0,6 (0,5; 0,6)
Стресс – 3 недели	0,75 (0,625; 0,85)	0,6 (0,5; 0,8)
Стресс – 4 недели	0,8 (0,6; 1,0)	0,6 (0,4; 0,8)
Примечание – Жирным шрифтом обозначены статистически значимые межгрупповые различия.		

Таблица 9 - Значения показателя перцептуального компонента ноцицепции крыс (ЛПРОХ, сек) в исходном состоянии и в разные временные периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса (Me (Q1; Q3))

Экспериментальные условия	Исходно	По окончании периода воздействий
Стресс – 1 неделя	2,81 (2,63; 2,91)	3,05 (2,9; 3,38)
Стресс – 2 недели	3,26 (2,67; 3,53)	3,13 (2,9; 3,21)
Стресс – 3 недели	3,27 (3,01; 3,44)	2,95 (2,61; 3,33)
Стресс – 4 недели	3,56 (2,9; 3,72)	3,4 (3,13; 3,43)

Показано, что через 1 неделю хронического мягкого стресса у животных наблюдается статистически значимое снижение ПВ в ответ на электрокожное раздражение хвоста по сравнению с исходными значениями (на 25,0%, $p < 0,05$; Рисунок 7А). В другие изученные временные периоды достоверных изменений показателя эмоционального компонента ноцицептивной чувствительности не обнаружено. Через 2 недели чередующихся стрессорных воздействий ПВ

животных не отличался, а через 3 и 4 недели – был незначительно меньше исходных показателей (на 20,0 и 25,0% соответственно; $p > 0,05$). Выявлено, что хроническая стрессорная нагрузка разной длительности не приводит к достоверным изменениям показателя перцептуального компонента болевой чувствительности у крыс (Рисунок 7Б). Обнаружена лишь тенденция к возрастанию ЛПРОХ у животных в ответ на светотермальное раздражение хвоста через 1 неделю (на 8,9%), но его снижение через 2, 3 и 4 недели чередующихся воздействий (на 4,0, 9,8 и 4,5% соответственно).

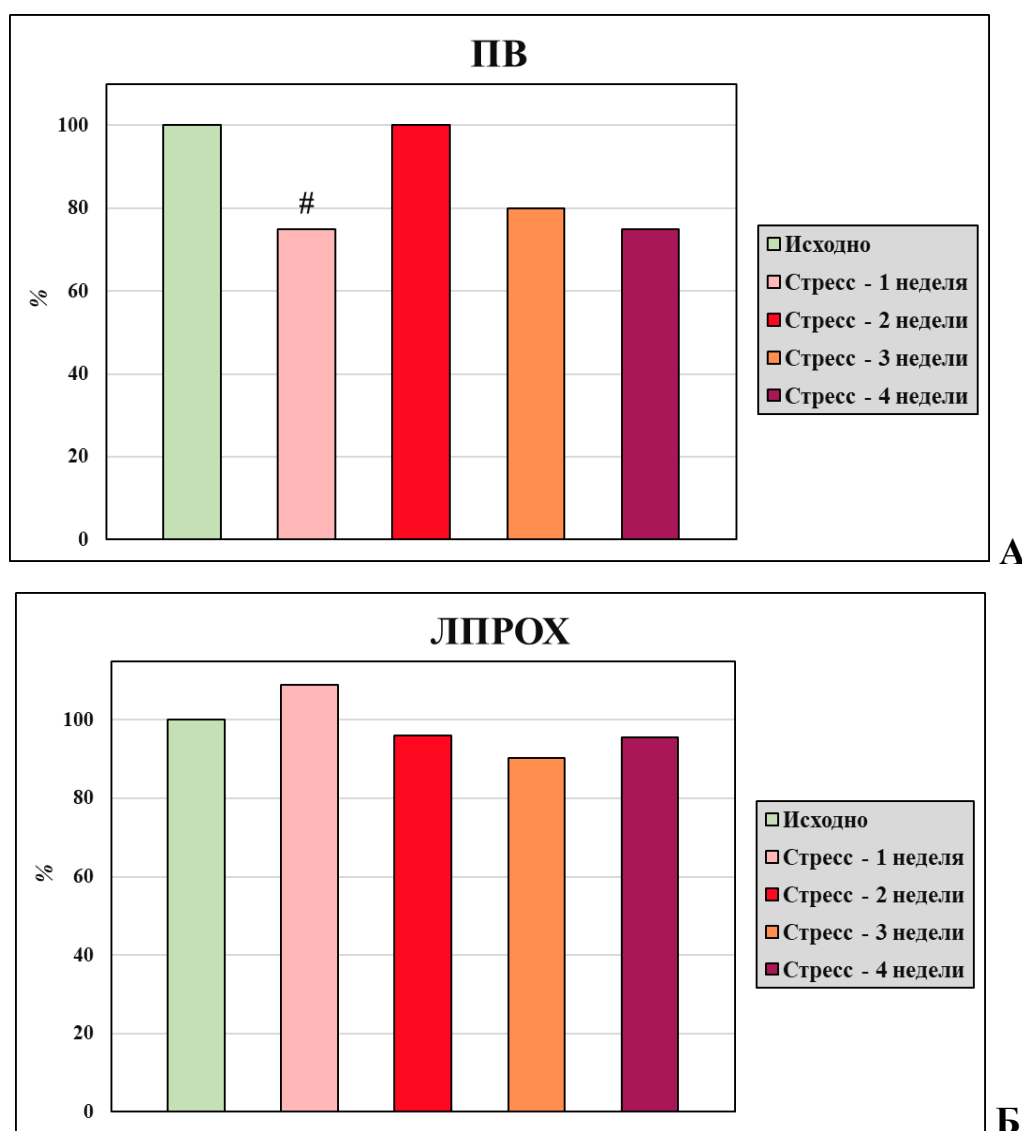


Рисунок 7 - Показатели эмоционального (ПВ, А) и перцептуального (ЛПРОХ, Б) компонентов ноцицепции крыс в условиях хронического стресса разной длительности (в процентах от исходного уровня, 100%). Здесь и в Таблицах 8 и 9: [#] $p < 0,05$ по сравнению с исходными значениями

Таким образом, хронический непредсказуемый мягкий стресс у крыс сопровождается усилением эмоционального компонента ноцицептивной чувствительности через 1 неделю, но не по окончании 2-й, 3-й и 4-й недель чередующихся воздействий. Перцептуальный компонент ноцицепции животных не меняется в анализируемые временные периоды многократных стрессорных нагрузок.

3.7. Корреляционный анализ показателей ноцицепции, массы тела, уровня глюкозы в крови, функциональной активности системы комплемента, концентрации цитокинов и кортикостерона в крови у крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности

В настоящем разделе изложены результаты корреляционного анализа внутригрупповых связей между изученными физиологическими показателями у крыс в разные временные периоды хронического стресса. Оценку выполняли через 1, 2, 3 и 4 недели многократных чередующихся стрессорных нагрузок. Интактные особи, не подвергавшиеся воздействиям стрессогенных факторов, служили в качестве контроля.

У крыс различных экспериментальных групп корреляционные матрицы были построены с использованием следующих числовых значений: масса тела в исходном состоянии и по окончании наблюдений; ноцицептивные пороги (ПВ, ЛПРОХ) в исходном состоянии и по окончании наблюдений; показатель функциональной активности системы комплемента в крови (процент лизиса эритроцитов); концентрация кортикостерона, цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) и глюкозы в крови по окончании наблюдений. Исключением были интактные особи, у которых, в связи с требованиями условий эксперимента – отсутствие каких-либо воздействий внешних факторов (в частности, ноцицептивных), – параметры болевой чувствительности не измеряли. Кроме того, массу тела у этих крыс

определяли только один раз – сразу после адаптации к условиям вивария (исходное состояние), то есть, непосредственно до декапитации.

Положительные (прямые) и отрицательные (обратные) корреляционные связи между перечисленными выше показателями оценивали с применением коэффициента ранговой корреляции Спирмена (уровень статистической значимости $p < 0,05$). Результаты, полученные в ходе корреляционного анализа, изложены в таблицах 10-14. Схематическое изображение корреляционных взаимосвязей между изученными физиологическими параметрами у особей разных экспериментальных групп представлено на Рисунке 8.

У интактных крыс обнаружена лишь одна положительная корреляция между функциональной активностью системы комплемента в крови и массой тела ($r = 0,74$, $p < 0,05$; Таблица 10).

Животные, подвергнутые многократным стрессорным воздействиям в течение 1 недели, характеризовались следующими взаимосвязями: обратной – между ПВ в исходном состоянии и концентрацией кортикостерона в сыворотке крови ($r = -0,84$, $p < 0,05$); прямыми – между исходным ЛПРОХ и процентом комплемент-зависимого лизиса эритроцитов ($r = 0,78$, $p < 0,05$), а также между массой тела в начале и по окончании наблюдений ($r = 0,98$, $p < 0,05$; Таблица 11).

После моделирования хронического непредсказуемого мягкого стресса на протяжении 2-х недель у крыс выявлены отрицательные корреляции между изученными параметрами: ПВ в исходном состоянии и после эмоциогенных нагрузок ($r = -0,84$, $p < 0,05$), уровнем глюкозы крови и концентрацией ИЛ-4 в сыворотке ($r = -0,78$, $p < 0,05$; Таблица 12).

Через 3 недели чередующихся стрессорных воздействий у животных наблюдались прямые корреляционные связи между параметрами ноцицепции в исходном состоянии – ПВ и ЛПРОХ ($r = 0,72$, $p < 0,05$), а также между показателями массы тела в начале и по завершении исследований ($r = 0,99$, $p < 0,05$; Таблица 13). В указанный период функциональная активность системы комплемента коррелировала отрицательно с уровнем глюкозы в крови ($r = -0,77$, $p < 0,05$) и

исходным ПВ ($r=-0,73$, $p<0,05$). У особей данной экспериментальной группы обнаружена обратная взаимосвязь между концентрацией ИЛ-10 в сыворотке крови и ПВ крыс в конце наблюдений ($r=-0,75$, $p<0,05$).

Моделирование хронического стресса у животных в течение 4-х недель сопровождалось появлением отрицательных корреляций между следующими анализируемыми параметрами: исходным показателем ПВ и концентрацией кортикостерона в крови ($r=-0,93$, $p<0,05$), ЛПРОХ в исходном состоянии и массой тела по завершении наблюдений ($r=-0,98$, $p<0,05$), ЛПРОХ в конце исследования и функциональной активностью системы комплемента ($r=-0,93$, $p<0,05$; Таблица 14).

Таким образом, моделирование хронического непредсказуемого мягкого стресса у крыс сопровождается появлением отсутствующих в норме корреляционных связей между ноцицептивными параметрами и показателями эндокринных, иммунных и обменных процессов, характер и направленность которых зависят от продолжительности воздействия стрессогенных факторов.

Через 1 неделю после начала моделирования хронического стресса у крыс обнаружена отрицательная корреляция между исходным ПВ в ответ на электрокожное раздражение и концентрацией одного из стресс-гормонов – кортикостерона – в сыворотке крови. Существенно, что указанный временной период соответствует наиболее значимым изменениям уровня кортикостерона крови с сопутствующим усилением эмоционального компонента ноцицепции после многократных стрессорных воздействий. На этой стадии наблюдений, характеризующейся тенденцией к росту функциональной активности системы комплемента в крови, выявлена прямая связь между данным параметром и исходным уровнем перцепции ноцицептивных раздражений (ЛПРОХ).

Животные, подвергнутые ежедневным чередующимся стрессорным нагрузкам в течение 2-х недель, демонстрируют отрицательную корреляцию между концентрацией ИЛ-4 и глюкозы в крови. Необходимо отметить, что на данной стадии исследования у крыс наблюдается рост содержания глюкозы и падение уровня указанного цитокина в сыворотке крови.

Наибольшее число связей между анализируемыми физиологическими параметрами у животных выявлено к окончанию 3-й недели ежедневных стрессорных нагрузок. Наиболее существенным представляется следующий факт: ПВ в ответ на электрокожную стимуляцию в исходном состоянии и на этой стадии наблюдений коррелируют отрицательно с процентом комплемент-зависимого лизиса эритроцитов и содержанием ИЛ-10 в крови соответственно. Следовательно, крысы с меньшими значениями показателей интенсивности иммунных процессов характеризуются более низкой степенью эмоциональной окраски болевых раздражителей. В данный период хронического стресса обнаружена обратная связь между параметром функциональной активности системы комплемента – процентом лизиса эритроцитов, и интенсивностью обмена углеводов – уровнем глюкозы крови. Кроме того, через 3 недели стресс-воздействий у животных наблюдаются две положительные корреляции: между исходными параметрами перцептуального и эмоционального компонентов ноцицепции, а также между массой тела в начале и по окончании наблюдений.

Через 4 недели многократных стрессорных нагрузок у крыс обнаружены три отрицательные корреляции между изученными параметрами. Необходимо особо отметить обратные взаимосвязи исходного показателя эмоционального компонента (ПВ исх), а также перцептуального (ЛПРОХ) компонента ноцицепции на указанной стадии наблюдений с уровнем кортикостерона и функциональной активностью системы комплемента в крови соответственно. Следовательно, животные с меньшей степенью изначальной эмоциональной окраски болевых стимулов, а также их перцепции после стрессовых воздействий демонстрируют более низкую интенсивность эндокринных и иммунных реакций соответственно при моделировании хронического мягкого стресса на протяжении 4-х недель.

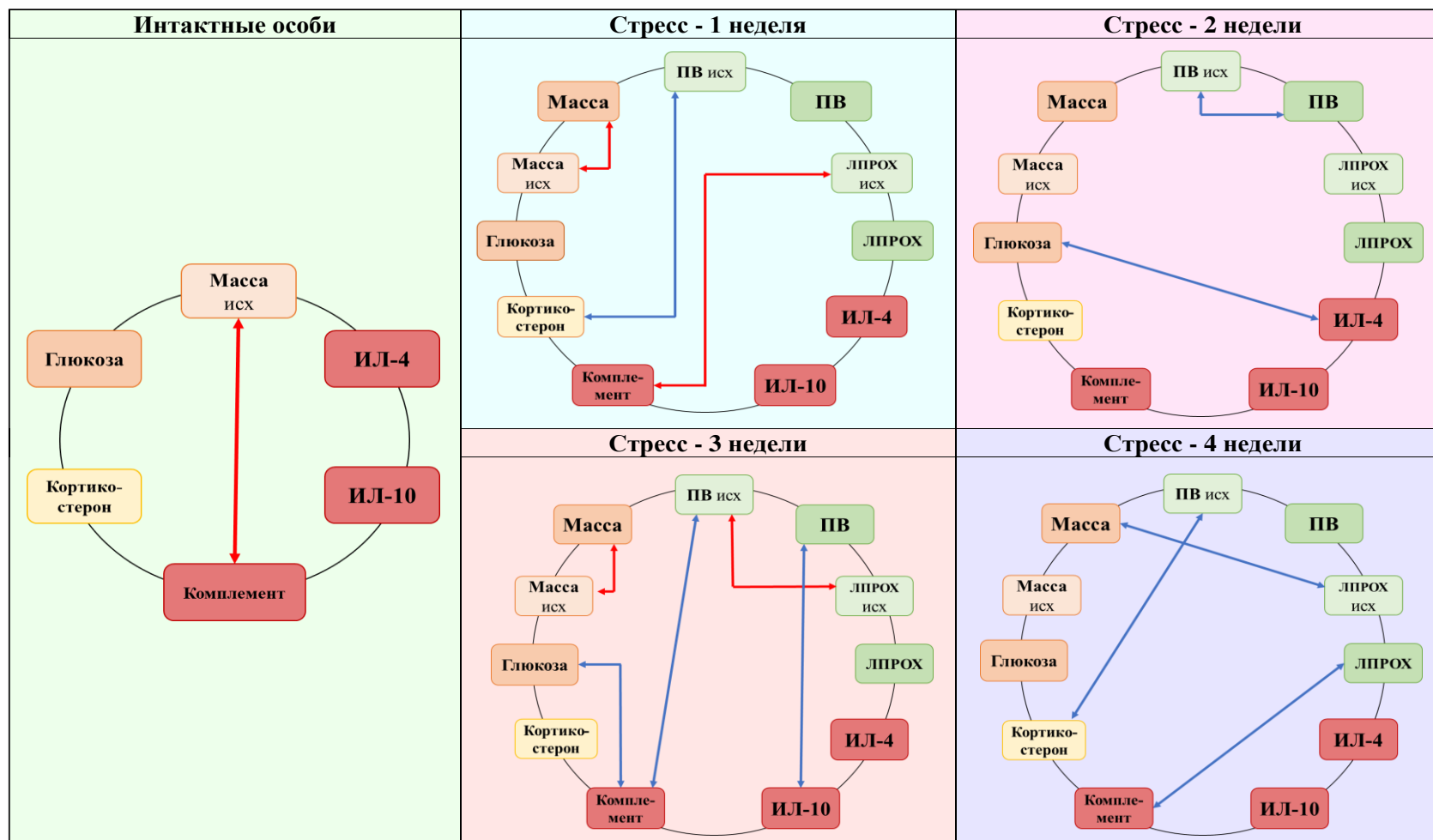


Рисунок 8 - Корреляционные связи массы тела (Масса исх, Масса), ноцицептивных порогов (ПВ исх, ПВ; ЛПРОХ исх, ЛПРОХ), концентрации цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10), глюкозы и кортикостерона, функциональной активности системы комплемента (Комплемент) в крови у интактных крыс, а также у животных в условиях хронического стресса разной длительности. Красные стрелки – положительные корреляции, $p < 0,05$; синие стрелки – отрицательные корреляции, $p < 0,05$

Таблица 10 - Корреляционная матрица физиологических показателей у интактных крыс

	Масса	Глюкоза	Комплемент	ИЛ-4	ИЛ-10	Кортикостерон
Масса	1,000000	0,346506	0,740854	0,666886	0,028571	0,279637
Глюкоза	0,346506	1,000000	0,395139	-0,666886	0,542857	-0,042424
Комплемент	0,740854	0,395139	1,000000	-0,153897	-0,085714	0,176293
ИЛ-4	0,666886	-0,666886	-0,153897	1,000000	-0,153897	0,359092
ИЛ-10	0,028571	0,542857	-0,085714	-0,153897	1,000000	-0,085714
Кортикостерон	0,279637	-0,042424	0,176293	0,359092	-0,085714	1,000000

Примечание – Здесь и в Таблицах 11-14:

- ПВ исх – порог вокализации при электрокожном раздражении хвоста в исходном состоянии;
- ПВ – порог вокализации при электрокожном раздражении хвоста после стрессорных воздействий;
- ЛПРОХ исх – латентный период реакции отведения хвоста при свето-термальном раздражении в исходном состоянии;
- ЛПРОХ – латентный период реакции отведения хвоста при свето-термальном раздражении после стрессорных воздействий;
- Масса исх – масса тела в исходном состоянии;
- Масса – масса тела после стрессорных воздействий;
- Глюкоза – концентрация глюкоза в крови;
- Комплемент – функциональная активность системы комплемента в крови;
- ИЛ-4 – концентрация интерлейкина-4 в сыворотке крови;
- ИЛ-10 – концентрация интерлейкина-10 в сыворотке крови;
- Кортикостерон – концентрация кортикостерона в сыворотке крови.

Таблица 11 - Корреляционная матрица физиологических показателей у крыс через 1 неделю хронического стресса

	ПВ исх	ПВ	ЛПРОХ исх	ЛПРОХ	Масса исх	Масса	Глюкоза	Комплемент	ИЛ-4	ИЛ-10	Кортикостерон
ПВ исх	1,000000	-0,066667	0,281718	-0,056344	-0,281718	-0,344265	0,513239	0,116199	-0,144338	0,396774	-0,845154
ПВ	-0,066667	1,000000	-0,281718	0,169031	-0,281718	-0,344265	-0,399186	-0,232397	0,288675	0,453456	0,056344
ЛПРОХ исх	0,281718	-0,281718	1,000000	-0,500000	-0,595238	-0,618284	-0,048196	0,785646	0,321429	-0,299407	-0,214286
ЛПРОХ	-0,056344	0,169031	-0,500000	1,000000	0,023810	0,036370	0,409668	-0,466477	0,357143	-0,263478	-0,380952
Масса исх	-0,281718	-0,281718	-0,595238	0,023810	1,000000	0,981981	0,036147	-0,245514	-0,464286	-0,107786	0,357143
Масса	-0,344265	-0,344265	-0,618284	0,036370	0,981981	1,000000	0,030675	-0,250020	-0,587378	-0,097568	0,400066
Глюкоза	0,513239	-0,399186	-0,048196	0,409668	0,036147	0,030675	1,000000	-0,354099	0,000000	0,024243	-0,506061
Комплемент	0,116199	-0,232397	0,785646	-0,466477	-0,245514	-0,250020	-0,354099	1,000000	0,112272	-0,364309	-0,135033
ИЛ-4	-0,144338	0,288675	0,321429	0,357143	-0,464286	-0,587378	0,000000	0,112272	1,000000	-0,738769	-0,178571
ИЛ-10	0,396774	0,453456	-0,299407	-0,263478	-0,107786	-0,097568	0,024243	-0,364309	-0,738769	1,000000	-0,035929
Кортикостерон	-0,845154	0,056344	-0,214286	-0,380952	0,357143	0,400066	-0,506061	-0,135033	-0,178571	-0,035929	1,000000

Таблица 12 - Корреляционная матрица физиологических показателей у крыс через 2 недели хронического стресса

	ПВ исх	ПВ	ЛПРОХ исх	ЛПРОХ	Масса исх	Масса	Глюкоза	Комплемент	ИЛ-4	ИЛ-10	Кортикостерон
ПВ исх	1,000000	-0,843274	-0,596930	-0,013041	0,308304	0,314864	-0,393580	-0,644095	0,443394	-0,561249	0,554362
ПВ	-0,843274	1,000000	0,532416	0,054986	-0,573903	0,027658	0,207435	0,510952	-0,137464	0,493007	-0,292174
ЛПРОХ исх	-0,596930	0,532416	1,000000	0,622766	-0,253012	-0,150602	0,680723	0,536625	-0,634742	0,343616	0,066668
ЛПРОХ	-0,013041	0,054986	0,622766	1,000000	-0,179644	-0,419169	0,634742	-0,096986	-0,666667	0,219578	0,421717
Масса исх	0,308304	-0,573903	-0,253012	-0,179644	1,000000	0,030120	0,301205	-0,524429	-0,215573	0,110448	-0,200004
Масса	0,314864	0,027658	-0,150602	-0,419169	0,030120	1,000000	-0,439759	-0,018294	0,658694	-0,368161	0,169700
Глюкоза	-0,393580	0,207435	0,680723	0,634742	0,301205	-0,439759	1,000000	-0,067078	-0,778457	0,613601	0,060607
Комплемент	-0,644095	0,510952	0,536625	-0,096986	-0,524429	-0,018294	-0,067078	1,000000	-0,084863	-0,198762	-0,337430
ИЛ-4	0,443394	-0,137464	-0,634742	-0,666667	-0,215573	0,658694	-0,778457	-0,084863	1,000000	-0,512348	0,265079
ИЛ-10	-0,561249	0,493007	0,343616	0,219578	0,110448	-0,368161	0,613601	-0,198762	-0,512348	1,000000	-0,123466
Кортикостерон	0,554362	-0,292174	0,066668	0,421717	-0,200004	0,169700	0,060607	-0,337430	0,265079	-0,123466	1,000000

Таблица 13 - Корреляционная матрица физиологических показателей у крыс через 3 недели хронического стресса

	ПВ исх	ПВ	ЛПРОХ исх	ЛПРОХ	Масса исх	Масса	Глюкоза	Комплемент	ИЛ-4	ИЛ-10	Кортикостерон
ПВ исх	1,000000	0,310525	0,718576	0,143715	-0,084337	-0,155691	0,678571	-0,734940	0,210819	-0,103032	-0,071858
ПВ	0,310525	1,000000	0,088192	0,403162	-0,500642	-0,529150	0,283473	-0,145757	0,000000	-0,745965	-0,365366
ЛПРОХ исх	0,718576	0,088192	1,000000	0,095238	-0,251502	-0,333333	0,285714	-0,395217	-0,316228	-0,012049	0,214286
ЛПРОХ	0,143715	0,403162	0,095238	1,000000	-0,371264	-0,404762	-0,321429	0,059881	0,210819	-0,168687	0,190476
Масса исх	-0,084337	-0,500642	-0,251502	-0,371264	1,000000	0,994030	0,486506	-0,415663	-0,737865	0,303036	0,419169
Масса	-0,155691	-0,529150	-0,333333	-0,404762	0,994030	1,000000	0,428571	-0,335335	-0,737865	0,313276	0,404762
Глюкоза	0,678571	0,283473	0,285714	-0,321429	0,486506	0,428571	1,000000	-0,774806	-0,210819	-0,363696	0,035714
Комплемент	-0,734940	-0,145757	-0,395217	0,059881	-0,415663	-0,335335	-0,774806	1,000000	0,948683	0,000000	0,143715
ИЛ-4	0,210819	0,000000	-0,316228	0,210819	-0,737865	-0,737865	-0,210819	0,948683	1,000000	-0,500000	-0,105409
ИЛ-10	-0,103032	-0,745965	-0,012049	-0,168687	0,303036	0,313276	-0,363696	0,000000	-0,500000	1,000000	0,048196
Кортикостерон	-0,071858	-0,365366	0,214286	0,190476	0,419169	0,404762	0,035714	0,143715	-0,105409	0,048196	1,000000

Таблица 14 - Корреляционная матрица физиологических показателей у крыс через 4 недели хронического стресса

	ПВ исх	ПВ	ЛПРОХ исх	ЛПРОХ	Масса исх	Масса	Глюкоза	Комплемент	ИЛ-4	ИЛ-10	Кортикостерон
ПВ исх	1,000000	0,242536	-0,173931	0,671717	0,202920	0,235294	-0,029412	-0,695725	-0,057977	-0,617647	-0,927634
ПВ	0,242536	1,000000	0,239046	0,000000	-0,358569	-0,242536	-0,666973	0,239046	0,000000	-0,303170	-0,239046
ЛПРОХ исх	-0,173931	0,239046	1,000000	0,321114	-0,648675	-0,981818	-0,454545	-0,072075	-0,180187	0,109091	0,234244
ЛПРОХ	0,671717	0,000000	0,321114	1,000000	0,018185	-0,366988	0,155970	-0,927426	-0,618284	-0,128446	-0,381881
Масса исх	0,202920	-0,358569	-0,648675	0,018185	1,000000	0,636375	0,662651	-0,263478	-0,035714	-0,242429	-0,538932
Масса	0,235294	-0,242536	-0,981818	-0,366988	0,636375	1,000000	0,357582	0,108442	0,198206	-0,170732	-0,228932
Глюкоза	-0,029412	-0,666973	-0,454545	0,155970	0,662651	0,357582	1,000000	-0,574861	-0,306319	0,381825	-0,323359
Комплемент	-0,695725	0,239046	-0,072075	-0,927426	-0,263478	0,108442	-0,574861	1,000000	0,464286	0,000000	0,571429
ИЛ-4	-0,057977	0,000000	-0,180187	-0,618284	-0,035714	0,198206	-0,306319	0,464286	1,000000	-0,360375	-0,250000
ИЛ-10	-0,617647	-0,303170	0,109091	-0,128446	-0,242429	-0,170732	0,381825	0,000000	-0,360375	1,000000	0,590404
Кортикостерон	-0,927634	-0,239046	0,234244	-0,381881	-0,538932	-0,228932	-0,323359	0,571429	-0,250000	0,590404	1,000000

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследование стресса и связанных с ним состояний является одной из наиболее актуальных проблем современной физиологии и смежных медико-биологических дисциплин. Согласно отчетам, опубликованным Всемирной организацией здравоохранения еще в 2013 г., стресс представляет собой «эпидемию XXI века».

Стресс – это разветвленная системная реакция, сопровождающаяся нарушениями различных физиологических функций организма [39]. Академиком К.В. Судаковым (2006) отмечено, что на начальных стадиях стрессорного ответа у млекопитающих наблюдаются преходящие, временные расстройства тонких механизмов саморегуляции ряда функциональных систем. Это может сопровождаться нарушением биоритмов сна и бодрствования, отклонением суточных колебаний уровня гормонов, ритмов дыхания и сердцебиения, изменением проницаемости тканевых барьеров, снижением иммунитета. Указанные изменения на первых этапах психоэмоционального стресса носят кратковременный характер и не наблюдаются при прекращении эмоциогенных нагрузок. Существенно, что все живые организмы неизменно сталкиваются с влиянием различных стрессогенных факторов. Рост частоты и разнообразия подобных воздействий обусловлен особенностями жизни людей в современном мире и повышает вероятность формирования состояния хронического стресса. В данных условиях нарушения физиологических функций приобретают устойчивый характер и часто становятся уже необратимыми.

Таким образом, изучение механизмов и особенностей влияния многократно повторяющихся стрессорных воздействий на человека является важной задачей не только фундаментальной, но и прикладной медицинской науки. В этом аспекте необходимо отметить, что последствия стрессорных нагрузок у млекопитающих могут значительно отличаться и зависят от вида, длительности и интенсивности стрессогенных факторов. Доказательством этого служат, в частности, различные

колебания гормонов ГГН-комплекса в крови в зависимости от специфики предъявляемого стрессора [21, 161].

Обнаружено, что одним из ключевых процессов, лежащих в основе реализации стрессорного ответа организма, является нарушение метаболизма [167]. В наблюдениях на различных моделях и в разные сроки хронического стресса получены достаточно противоречивые данные об изменениях обмена глюкозы и механизмах его регуляции [152, 156, 205]. В ряде работ описаны расстройства пищевого поведения и отклонения в приросте массы тела при стрессогенных воздействиях [152, 226, 232]. Экспериментальные исследования на животных выявили модулирующее влияние стрессорных нагрузок на уровень тепловыделения, а также объемы потребляемого кислорода и выделяемого углекислого газа [6, 166]. Определение физиологических показателей интенсивности метаболизма является высокоинформативным подходом к изучению патогенетических механизмов стресс-индуцированных патологических состояний, например, гипертонии [8, 87, 196], диабета [107, 133], метаболического синдрома [78, 89, 133] и других.

Одной из наиболее серьезных дисфункций, возникающих в состоянии стресса у млекопитающих, является нарушение иммунного статуса организма [6]. Существуют убедительные доказательства реципрокного влияния областей мозга, играющих ведущую роль в регуляции активности стресс-реализующих систем и иммунных структур [20, 175]. В работе Е.А. Корневой с соавт. (2017) изложены современные представления о клеточно-молекулярных основах центральных механизмов, определяющих изменения нейроиммунных взаимодействий в условиях стрессорных воздействий.

Важную роль в формировании функциональных связей между ЦНС, эндокринной и иммунной системами играют цитокины [29]. В предыдущих исследованиях были выявлены колебания цитокинового профиля различных биологических тканей млекопитающих при стрессорных нагрузках. Получены как сходные, так и противоположные результаты об особенностях изменений

содержания цитокинов крови в зависимости от характера, продолжительности влияния и силы стресс-фактора [3, 25, 31, 134, 171, 181, 230]. Показано наличие взаимосвязей между колебаниями содержания ряда цитокинов, изменениями функциональной активности центрального звена стресс-системы и уровнем эмоционального и когнитивного интеллекта [111]. Некоторые цитокины оказывают модулирующее влияние на молекулярные процессы в структурах мозга, что может приводить к изменениям поведения и развитию психических расстройств, таких как депрессия [24, 96, 230].

Один из важнейших гуморальных факторов врожденного иммунитета – система комплемента, обладающая как про-, так и противовоспалительными свойствами [154, 199]. Помимо элиминации чужеродных агентов, иммунных комплексов и апоптотических клеток из крови и поврежденных тканей [149], регуляторного действия на клеточный иммунитет [199], компоненты системы комплемента могут оказывать прямое влияние на нейрогенез, миграцию и реструктуризацию синапсов в ЦНС. Это, в свою очередь, вносит большой вклад в изменения поведения, определяет устойчивость к развитию негативных последствий стрессорных нагрузок. Важно, что в современной научной литературе имеются факты, указывающие на возможность активации системы комплемента факторами неантигенной природы [199, 229], в том числе, стрессогенного характера.

В контексте исследований стресса значительное внимание уделяется особенностям болевой чувствительности млекопитающих. В настоящее время имеются доказательства того, что состояние стресса сопровождается разными, в том числе противоположными изменениями показателей функциональной активности ноцицептивной и антиноцицептивной систем [2, 14, 83, 104]. Необходимо подчеркнуть, что колебания ноцицептивной чувствительности в значительной степени зависят от вида и продолжительности эмоциогенного воздействия, проявляются либо её уменьшением – стресс-аналгезией, либо усиленной реакцией на болевые раздражители – гипералгезией [5, 155].

Несмотря на высокую научную актуальность и социальную значимость изучения механизмов, опосредующих нарушение физиологических функций у млекопитающих при многократных воздействиях различных стресс-факторов, многие вопросы в этой области остаются открытыми. В связи с этим, целью нашей работы явилось исследование особенностей показателей ноцицепции, эндокринных и иммунных функций, а также обменных процессов у крыс после многократных чередующихся стрессорных воздействий разной длительности.

До того, как перейти к обсуждению полученных результатов, следует несколько дополнить имеющиеся научные данные по выбранной нами модели стресса, приведенные в п. 2.2. раздела «Материалы и методы исследования».

Разработка модели хронического непредсказуемого стресса основана на оригинальных исследованиях R.J. Katz и его коллег (1981): предъявлении крысам в течение 21 дня стрессогенных факторов различного характера, таких как электрошоки, иммобилизация, плавание в холодной воде и других сильных раздражителей. В дальнейшем данная модель была модифицирована P. Willner с соавт. (1987), которые предложили использовать более мягкие стрессорные нагрузки на протяжении длительного времени. Новая модель получила название хронический непредсказуемый мягкий стресс (*chronic unpredictable mild stress, CUMS*). Впоследствии эта методика стала широко применяться для моделирования депрессивного поведения у крыс. В описанных условиях наблюдаются снижение потребления животными сахарозы, поведенческая беспомощность, тревожноподобные изменения, вегетативные нарушения. Неконтролируемость и непредсказуемость воздействий разных стрессорных факторов препятствуют быстрой адаптации животных к используемым стрессорам [55, 202]. Кроме того, разработанный подход позволяет наиболее корректно экстраполировать результаты исследований на животных в области стресса на человека.

В нашем исследовании экспериментальные крысы были подвергнуты стрессорным нагрузкам на протяжении 1, 2, 3 и 4 недель, что соответствует описанным ранее срокам моделирования хронического непредсказуемого мягкого

стресса [165, 225]. Изучение динамики анализируемых физиологических показателей при предъявлении разнообразных, чередующихся, периодически повторяющихся или не повторяющихся (при воздействиях на протяжении 1 недели) стресс-факторов позволяет: (1) оценить особенности компенсаторных возможностей организма в постоянно меняющихся условиях внешней среды; (2) определить возможный вклад многократных стрессорных нагрузок разной длительности в развитие патологических состояний.

На первом этапе нами был изучен характер изменений концентрации кортикостерона в крови животных в разные временные периоды хронического стресса. Продемонстрировано, что многократные стрессорные нагрузки у крыс сопровождаются уменьшением содержания кортикостерона по сравнению с таковым у интактных особей. Данные изменения были наиболее выражены к окончанию 1-й недели наблюдений, сохраняясь также через 2 недели после начала воздействий. Уровень кортикостерона в крови восстанавливался до нормальных значений после 3-й и 4-й недель повторяющихся стрессорных нагрузок [35].

Представленные результаты иллюстрируют сложные колебания уровня одного из типичных стресс-гормонов в сыворотке крови – кортикостерона – у крыс в разные временные периоды ежедневных чередующихся стрессорных воздействий. Выявленные нами изменения дополняют имеющиеся научные факты о специфике нейроэндокринных реакций стресс-систем в зависимости от вида, длительности и интенсивности стрессорных нагрузок. Действительно, в экспериментах I.N. Tjurenkov с соавт. (2014) показано, что на 8-е сутки многократного ежедневного предъявления различных стресс-факторов у крыс наблюдается выраженное снижение уровня кортикостерона в крови. В исследованиях, проведенных на другой модели стресса у крыс – ежедневной 1-ч иммобилизации – выявлено, что концентрация кортикостерона превышает контрольные значения через 1, 2 и 4 недели наблюдений, но уменьшается в последующий период [152]. По мнению авторов, такая динамика указывает на возможное постепенное привыкание животных к стрессогенным воздействиям.

Обнаруженные в указанных работах различия колебания уровня кортикостерона в крови животных могут быть обусловлены спецификой применяющихся методик экспериментального стресса. Модель ежедневной 1-ч иммобилизации крыс предполагает повторяющееся действие более сильного, но кратковременного стрессогенного фактора, что вносит вклад в повышенную реактивность ГГН-системы с устойчивой секрецией соответствующих гормонов на протяжении длительного времени. В отличие от данного метода, модель хронического непредсказуемого мягкого стресса включает в себя многократное воздействие относительно слабых, разных по характеру стрессоров. По-видимому, это определяет снижение функции коры надпочечников или вторичное, компенсаторное подавление активности ГГН-комплекса с уменьшением выработки кортикостерона, опосредованным влиянием стресс-лимитирующих систем [47]. В данных условиях на более поздних сроках хронического стресса происходит постепенное восстановление функциональной активности ГГН-системы.

Обнаруженная в нашей работе нормализация уровня кортикостерона в сыворотке крови крыс через 3 и 4 недели многократных стрессорных нагрузок [35] может быть обусловлена следующей причиной. Умеренная сила гетерогенных факторов, применяющихся при моделировании хронического непредсказуемого мягкого стресса, неизменно предполагает привыкание ГГН-системы в частности и организма в целом к развивающемуся состоянию, как неспецифической ответной реакции [194, 195], с последующим восстановлением физиологических показателей.

Следующий этап нашего исследования был направлен на изучение изменений метаболических показателей у крыс – массы тела и концентрации глюкозы в крови – при хроническом непредсказуемом мягком стрессе разной длительности.

Установлено, что в отличие от контрольных особей, содержащихся в стандартных условиях вивария, животные, подвергнутые чередующимся стрессорным воздействиям в течение 1 недели, характеризуются отсутствием

прироста массы тела по сравнению с исходным значением [34]. Выявленный факт может быть обусловлен развитием в данный промежуток времени второй стадии стресса, которая проявляется в задержке роста, а также такими признаками, как гипертрофия надпочечников, атрофия половых желез, появление базофилов в гипофизе [190, 193].

В наших экспериментах показано, что и в другие периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса – 2, 3 и 4 недели – темпы роста крыс были ниже по сравнению с контролем. При этом следует отметить, что к окончанию 3-й недели многократных стрессорных нагрузок масса тела животных была меньше, чем у контрольных особей [34].

Представленные результаты не только согласуются, но и дополняют данные, полученные в предыдущих исследованиях на модели хронического мягкого стресса [17, 102]. Предполагается, что подобные изменения массы тела могут косвенно свидетельствовать о снижении пищевой мотивации у животных в указанных экспериментальных условиях [17, 232].

Общая тенденция к уменьшению массы тела и/или замедлению темпа её прироста обнаружена ранее и на других моделях в разные временные периоды хронического стресса [152, 221]. Было высказано предположение, что нарушение прироста массы тела в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса является одним из маркеров развития стрессорного состояния [102, 202].

В ходе определения концентрации глюкозы в крови крыс, подвергнутых многократным чередующимся стрессорным нагрузкам разной длительности, нами получены следующие результаты. Обнаружено, что моделирование хронического непредсказуемого мягкого стресса сопровождается ростом уровня глюкозы к окончанию 2-й недели повторяющихся воздействий, но не через 1, 3 или 4 недели после начала наблюдений.

Обсуждая этот факт, следует отметить, что в условиях стрессорных воздействий глюкоза является основным источником энергии, в частности, для поддержания повышенной синтетической активности иммунных клеток. Известно,

что формирование эффективного иммунного ответа включает в себя усиление клеточной пролиферативной, биосинтетической и секреторной активности – процессов, предполагающих значительное энергопотребление. Иммунные клетки, вовлеченные в реализацию как адаптивного, так и врожденного иммунитета, должны обладать способностью быстро реагировать на различные возмущающие факторы, переходя от спокойного фенотипа к высокоактивному состоянию в течение короткого времени после стимуляции [35, 220].

Высказанное предположение находит подтверждение в результатах изучения характеристик иммунитета у крыс, рассмотренных далее.

Нами был проанализирован характер изменений иммунных показателей периферической крови – ряд параметров цитокинового профиля (уровень ИЛ-4 и ИЛ-10) и функциональная активность системы комплемента – у крыс в разные временные периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса.

Выявлено, что моделирование хронического непредсказуемого мягкого стресса сопровождается разнонаправленными изменениями концентрации цитокинов в сыворотке крови у крыс по сравнению со значениями у интактных животных [36]. В этих экспериментальных условиях выявлено снижение уровня ИЛ-4 во все временные периоды наблюдений, статистически значимо – к окончанию 2-й и 4-й недель многократных стрессорных воздействий. Содержание ИЛ-10 демонстрирует тенденцию к росту уже после 1-й недели стрессорных нагрузок, выражено превышая показатели у интактных особей через 2, 3 и 4 недели после начала наблюдений.

Обсуждая полученные данные, необходимо отметить, что ИЛ-4 и ИЛ-10 обладают плеiotропной активностью и оказывают регуляторное воздействие на функциональную активность как иммунной системы, так и ЦНС.

Продемонстрировано, что продукция ИЛ-10 макрофагами усиливается под влиянием катехоламинов и глюкокортикоидов, активно выделяющихся в состоянии стресса [86, 124]. По-видимому, этот процесс вносит вклад в обнаруженное нами увеличение концентрации ИЛ-10 уже с 1-й недели

хронических стрессорных нагрузок. Полученные данные согласуются с описанными ранее изменениями содержания ИЛ-10 в крови крыс при ежедневной 4-ч иммобилизации в течение 8 суток [25, 112].

Следует указать, что в исследованиях на других моделях хронического (ежедневная 4-ч иммобилизация в течение 10 суток) и острого стресса у крыс (принудительное плавание) было показано, наоборот, снижение уровня ИЛ-10 в крови [99]. Сходные результаты получены также в опытах на крысах, подвергнутых однократной длительной стрессорной нагрузке на модели 24-ч иммобилизации [31].

Одной из главных функций ИЛ-10 является регуляция цитокиногенеза. Показано, что ИЛ-10 оказывает модулирующее действие на порог активации Т-клеток, подавляя выработку ими цитокинов (в том числе, ИЛ-4), снижает показатели выживаемости эозинофилов и ИЛ-4-индуцированный синтез IgE. Таким образом, ИЛ-10 ингибирует цитокины, связанные с клеточным иммунитетом и аллергическим воспалением, стимулируя при этом гуморальный ответ [72]. Возможно, обнаруженное нами уменьшение концентрации ИЛ-4 в крови крыс при хроническом стрессе частично связано с данными эффектами ИЛ-10 [36].

Полученные результаты дополняют факты, выявленные в предыдущих исследованиях. Так, например, однократная длительная иммобилизация (24 ч) поведенчески пассивных крыс в индивидуальных пеналах также приводила к снижению концентрации ИЛ-4 в сыворотке крови [31]. Однако в других экспериментах на модели ежедневной 4-ч иммобилизации животных на протяжении 8 суток значимых колебаний содержания ИЛ-4 в крови не выявлено [25].

Выраженная вариабельность характера изменений концентрации ИЛ-10 и ИЛ-4 в крови млекопитающих на различных экспериментальных моделях иллюстрирует особенности цитокинового профиля биологических тканей при стрессорных нагрузках разного вида, силы и продолжительности.

В дополнение к сказанному необходимо подчеркнуть, что ИЛ-10 в

зависимости от дозы может участвовать в подавлении АКТГ-индуцированной выработки стероидных гормонов в клетках надпочечников. Указанный эффект может быть связан с ингибированием ферментов, вовлеченных в биосинтез кортикостерона. В ряде исследований на мышах показано, что рецепторы ИЛ-10 активно экспрессируются в пучковой зоне надпочечников – области, ответственной за продукцию глюкокортикоидов [111, 120, 179]. Именно эти особенности, по-видимому, вносят определенный вклад в обнаруженное нами уменьшение концентрации кортикостерона у крыс к окончанию 1-й недели стрессорных нагрузок – период начального роста содержания ИЛ-10 в сыворотке крови.

Кроме перечисленных выше эффектов, ИЛ-10 играет роль в регуляции циркадных ритмов у млекопитающих. Данный цитокин частично подавляет выработку просомногенных медиаторов, таких как ИЛ-1 и ФНО, увеличивает продукцию антисомногенных веществ [228]. Таким образом, ИЛ-10 способен оказывать опосредованное модулирующее действие на поведение и повышать эмоциональную лабильность животных. Указанные особенности могут наиболее выражено проявляться в применяемых нами экспериментальных условиях, предполагающих многократное предъявление разных стрессогенных факторов, нарушающих нормальные суточные ритмы жизнедеятельности крыс (приема воды и пищи, двигательной активности, изменения освещенности и режима сна-бодрствования).

Следует особо отметить, что ИЛ-4 участвует в регуляции синтеза иммуноглобулинов, а также активно вовлечен в процессы воспаления и фиброза, аллергические реакции и противоопухолевую активность [115]. Помимо иммуномодулирующих свойств, указанный цитокин обладает рядом специфических функций. В исследовании, проведенном S. Wachholz с соавт. (2017), выявлено, что ИЛ-4 подавляет функциональную активность транспортера серотонина в клетках микроглии. Снижение уровня ИЛ-4 способствует развитию депрессивно-подобного поведения. Таким образом, обнаруженное в нашей работе

уменьшение содержания ИЛ-4 в крови крыс на определенных временных стадиях хронического непредсказуемого мягкого стресса может вносить вклад в развитие поведенческих расстройств, часто наблюдающихся при стрессорных воздействиях [227].

В ходе изучения еще одного иммунного показателя – функциональной активности системы комплемента крови (классический путь) – у животных после моделирования хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности нами получены следующие результаты.

Обнаружено, что функциональная активность системы комплемента крови у крыс характеризуется тенденцией к увеличению уже после 1-й недели многократных стрессорных нагрузок, значимо превышая уровень у интактных особей через 2 недели после начала наблюдений. В последующие временные периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса – 3 и 4 недели – данный показатель снижается, приближаясь к контрольным значениям [36].

В аспекте рассматриваемой проблемы, важным представляется тот факт, что система комплемента обеспечивает ряд иммунных процессов, таких как лизис клеток, привлечение лейкоцитов в очаг воспаления, облегчение фагоцитоза, стимуляция воспаления и реакций гиперчувствительности [33]. Существенно, что кроме иммунных механизмов активации системы комплемента, описаны некоторые факторы неантигенной природы, в том числе, стрессогенного характера, влияющие на содержание и активность компонентов комплемента крови. Однако большинство работ было направлено на изучение последствий действия таких острых стресс-факторов, как острая соматическая боль, острый холодовой и психоэмоциональный стресс, острый окислительный стресс, физические нагрузки [22, 32, 106, 180]. Нами впервые продемонстрировано повышение функциональной активности системы комплемента крови у крыс в условиях хронического стресса при воздействии чередующихся стрессоров. Возможно, выявленные изменения обусловлены синдромом функциональной готовности и вносят вклад в последующую реализацию иммунного ответа в соответствующих условиях [7, 36].

В дополнение к сказанному нужно указать, что синтез C3-компонента в различных тканях у млекопитающих усиливается под действием ИЛ-1 β [224]. В свою очередь, ИЛ-10 подавляет процессинг ИЛ-1 β [109, 175]. Данные процессы могут лежать в основе обнаруженного нами снижения функциональной активности системы комплемента в крови крыс на фоне высокого уровня ИЛ-10 через 3 и 4 недели повторяющихся стрессорных воздействий [36].

C3 является ключевым фактором комплемента в пути его активации, и, реагируя с компонентами C5, C6, C7, C8 и C9, участвует в образовании мембраноатакующего комплекса, который действует как проницаемая пора, вызывая повреждение ГЭБ [130]. После расщепления C3-компонента образуется C3a, связывающийся с рецептором C3aR на эндотелиоцитах сосудов мозга [185], что приводит к изменению морфологических характеристик сосудов и росту проницаемости ГЭБ [172]. Указанные процессы приводят к попаданию компонентов комплемента в спинномозговую жидкость и повышению функциональной активности системы комплемента в этой среде [51, 52, 130]. Увеличение содержания C5a в крови может служить одним из индикаторов персистирующего воспалительного процесса и нарушения проницаемости ГЭБ [204]. Недавние клинические исследования выявили прямые корреляционные связи уровней C5a и C5 в крови и спинномозговой жидкости с поведенческими проявлениями депрессии [176, 207].

Относительно недавно выявленной особенностью системы комплемента является ее влияние на структурно-функциональные характеристики клеток ЦНС. Нейроны, астроциты и клетки микроглии экспрессируют рецепторы и регуляторы комплемента, способны синтезировать белки комплемента. Показано, что комплемент оказывает модулирующее действие на нейрогенез, миграцию и реструктуризацию синапсов, а также на синаптические процессы пластичности, лежащие в основе обучения и памяти во взрослом мозге. Эти факторы во многом определяют поведенческие и другие реакции в условиях стресса [204, 216, 217].

В контексте результатов нашего исследования важно то, что система

комплемента играет роль в механизмах регуляции обмена глюкозы. Известно, например, что усиление функциональной активности комплемента может способствовать апоптозу α -клеток поджелудочной железы. Кроме того, анафилатоксины – продукты расщепления компонентов комплемента – способствуют привлечению лейкоцитов в жировую ткань, развитию воспаления и формированию резистентности этой ткани к инсулину [169]. Таким образом, обнаруженное нами повышение функциональной активности системы комплемента может вносить вклад в описанное выше увеличение содержания глюкозы в крови крыс через 2 недели моделирования хронического непредсказуемого мягкого стресса.

На следующем этапе работы нами изучены показатели ноцицепции у крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной продолжительности. Перцептуальный компонент болевой чувствительности оценивали по ЛПРОХ при свето-термальном раздражении, а эмоциональный компонент – по ПВ в ответ на электрокожное раздражение хвоста.

Хронический непредсказуемый мягкий стресс у животных приводил к снижению ПВ при ноцицептивной стимуляции к окончанию 1-й недели воздействий, что указывает на усиление эмоционального компонента болевой чувствительности в указанный период. Значимых изменений этого показателя через 2, 3 и 4 недели чередующихся стрессорных нагрузок не обнаружено [34].

Можно предположить, что условия переменной стрессогенности у млекопитающих приводят к росту эмоциональной лабильности, проявляющейся в усилении реакций на предъявление внешних стимулов, в том числе, болевых. Полученные результаты дополняют представления об изменениях функциональной активности ноцицептивной системы при стрессорных воздействиях. Выраженная вариабельность реакций как ноцицептивной, так и антиноцицептивной системы млекопитающих на разных моделях стрессорных нагрузок была подробно рассмотрена в разделе «Обзор литературы».

Нами показано, что ЛПРОХ в ответ на свето-термальное раздражение –

показатель перцептуального компонента ноцицепции крыс – не изменяется в анализируемые временные периоды многократных стрессорных нагрузок [34]. Этот факт позволяет предположить отсутствие физиологического усиления распространения ноцицептивного возбуждения на уровне периферического звена системы оценки болевого потока в данных условиях. Полученные данные подтверждают описанные ранее механизмы восприятия болевого раздражителя. В частности, известно, что степень перцепции ноцицептивного стимула является достаточно стабильным показателем, изменения которого наблюдаются только при воздействии сильных раздражителей [1].

В дополнение к сказанному необходимо подчеркнуть, что в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса разной длительности у крыс нами выявлено повышение уровня ИЛ-10 в сыворотке крови (рассмотрено выше). В научной литературе имеются убедительные доказательства наличия у этого цитокина выраженных антиноцицептивных свойств [4, 61, 222]. Возможно, наблюдающиеся изменения содержания ИЛ-10 при многократных чередующихся стрессорных воздействиях также вносят определенный вклад в относительное постоянство перцепции болевых раздражителей в указанных условиях.

На заключительном этапе исследований был проведен корреляционный анализ между изученными физиологическими показателями у крыс в условиях хронического непредсказуемого мягкого стресса. Корреляционные матрицы у интактных особей и животных, подвергнутых многократным стрессорным нагрузкам различной длительности, построены с использованием следующих числовых значений: масса тела в исходном состоянии и по окончании наблюдений; ноцицептивные пороги (ПВ, ЛПРОХ) в исходном состоянии и по окончании наблюдений; показатель функциональной активности системы комплемента в крови (процент комплемент-зависимого лизиса эритроцитов); концентрация кортикостерона, цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10) и глюкозы в крови.

Установлено, что через 1 неделю после начала моделирования хронического стресса у крыс наблюдается отрицательная корреляция между исходным ПВ в

ответ на электрокожное раздражение и уровнем одного из стресс-гормонов – кортикостерона – в сыворотке крови. Таким образом, животные с изначально большей эмоциональной окраской ноцицептивных раздражителей характеризуются более высокой концентрацией кортикостерона в условиях отрицательных эмоциогенных нагрузок. Указанный временной период многократных стрессорных воздействий соответствует наиболее значимым изменениям уровня кортикостерона крови с сопутствующим усилением эмоционального компонента ноцицепции. Следует отметить, что эмоциональный компонент ноцицепции отражает психоэмоциональный ответ на повреждение, который формируется на основе возбуждения отрицательных эмоциогенных зон головного мозга и вызывает изменение вегетативных реакций, гормональных и обменных процессов [30].

В нашем исследовании обнаружено, что на этой же стадии наблюдений, характеризующейся тенденцией к повышению функциональной активности комплемента в крови крыс, выявлена прямая связь между данным параметром и исходным уровнем перцепции ноцицептивных раздражений (ЛПРОХ). Следовательно, особи с изначально меньшей чувствительностью к болевым раздражителям демонстрируют бóльшую реактивность системы комплемента крови после многократных стрессорных нагрузок.

В нашей работе обнаружено, что животные, подвергнутые ежедневным чередующимся стрессорным нагрузкам в течение 2 недель, демонстрируют отрицательную корреляцию между концентрацией ИЛ-4 и глюкозы в крови. Необходимо отметить, что на этой стадии исследования у крыс наблюдается увеличение содержания глюкозы, сопровождающееся снижением уровня указанного цитокина в сыворотке крови.

Представленные данные находят объяснение в результатах предыдущих работ. Продемонстрировано, в частности, что ИЛ-4 участвует в регуляции чувствительности клеток к инсулину, увеличивая поглощение ими глюкозы [71, 132].

Наибольшее число связей между анализируемыми физиологическими

параметрами у животных выявлено к окончанию 3-й недели ежедневных стрессорных нагрузок. Наиболее существенным представляется следующий факт: ПВ в ответ на электрокожную стимуляцию в исходном состоянии и на указанной стадии наблюдений коррелирует отрицательно с функциональной активностью комплемента и содержанием ИЛ-10 в крови соответственно. Следовательно, крысы с более низкой степенью эмоциональной окраски болевых раздражителей характеризуются меньшими значениями показателей интенсивности иммунных процессов на указанных сроках хронического стресса. Причины обнаруженных закономерностей требуют проведения дальнейших исследований в этой области.

Через 3 недели моделирования хронического непредсказуемого мягкого стресса у крыс выявлена обратная связь между показателем функциональной активности системы комплемента – процентом лизиса эритроцитов, и интенсивностью обмена углеводов – уровнем глюкозы крови. Обнаруженная взаимосвязь может быть обусловлена следующим фактом. Установлено, что даже при базальном уровне комплемента продукт его деградации – «белок, стимулирующий ацилирование» (acylation-stimulating protein, ASP) – оказывает стимулирующее влияние на глюкозозависимую секрецию инсулина островками Лангерганса [48, 169]. Данные процессы способствуют снижению уровня глюкозы в крови.

На более поздних сроках многократных стрессорных нагрузок, а именно через 4 недели, у животных обнаружены три отрицательные корреляции между изученными параметрами. Необходимо особо отметить обратные взаимосвязи исходного показателя эмоционального компонента (ПВ исх), а также перцептуального (ЛПРОХ) компонента ноцицепции на указанной стадии наблюдений с уровнем кортикостерона и функциональной активностью системы комплемента в крови соответственно. Следовательно, животные с меньшей степенью изначальной эмоциональной окраски болевых стимулов, а также их перцепции после стрессовых воздействий демонстрируют более низкую интенсивность эндокринных и иммунных реакций соответственно к окончанию 4-й

недели хронического непредсказуемого мягкого стресса.

Наличие указанных корреляций объясняется имеющимися научными данными о тесном взаимодействии регуляторных механизмов, определяющих функциональную активность ноцицептивной системы, интенсивность реакций ГГН-комплекса и иммунных структур у млекопитающих. Результаты недавних исследований показывают наличие рецепторов к одним и тем же лигандам на структурных элементах, входящих в состав стресс-лимитирующих [58, 184] и антиноцицептивных систем [73, 82, 158]. Кроме того, выявлены двусторонние связи областей головного мозга, регулирующих активность стресс-систем организма, с иммунокомпетентными образованиями [20, 175]. Реализация описанных взаимодействий наиболее выражено проявляется при экстремальных внешних воздействиях, в частности, в условиях длительного стресса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты нашего исследования указывают на то, что хронический непредсказуемый мягкий стресс в течение 1, 2, 3 и 4 недель у крыс оказывает модулирующее влияние на функциональную активность эндокринной и иммунной систем, метаболические параметры и болевую чувствительность. Характер изменений изученных физиологических показателей различается в зависимости от продолжительности стрессорных воздействий. Обобщенная схема, иллюстрирующая направленность изменений анализируемых параметров у животных на разных сроках хронического непредсказуемого мягкого стресса, представлена в Таблице 15.

Таблица 15 - Направленность изменений изученных показателей у крыс в динамике хронического непредсказуемого мягкого стресса

СТРЕСС	Кортикостерон	Глюкоза	ИЛ-4	ИЛ-10	Комплемент	Масса тела	ПВ	ЛПРОХ
	По сравнению со значениями у интактных крыс					По сравнению с исходными значениями		
1 неделя	↓	-	⋮	⋮	⋮	-	↓	-
2 недели	↓	↑	↓	↑	↑	↑	-	-
3 недели	-	-	⋮	↑	-	↑	-	-
4 недели	-	-	↓	↑	-	↑	-	-

Примечание – «-», нет отличий от референсного значения; пунктирные стрелки – тенденция к изменениям по сравнению с референсным значением ($p>0,05$); толстые стрелки – статистически значимые изменения по сравнению с референсным значением ($p<0,05$).

Отсутствие прироста массы тела, увеличение уровня глюкозы, снижение концентрации кортикостерона в крови и повышение функциональной активности системы комплемента наблюдаются в относительно ранние периоды многократных чередующихся стрессорных нагрузок (1-2 недели). В указанных

экспериментальных условиях обнаружено усиление эмоционального компонента ноцицепции, а также разнонаправленные колебания показателей цитокинового профиля крови у животных. Поздние сроки наблюдений – 3-я – 4-я недели – характеризуются реализацией тесного межсистемного взаимодействия и адаптивных процессов в условиях повторяющихся воздействий различных стрессогенных факторов.

Полученные данные расширяют представления о системной организации физиологических функций млекопитающих в условиях хронического стресса. Обнаруженные факты вносят вклад в понимание особенностей и динамики адаптационно-компенсаторных процессов, протекающих на определенных временных стадиях длительного воздействия разных стрессорных факторов.

Представленные сведения могут быть перспективны для дальнейшего изучения этиопатогенетических механизмов формирования стресс-индуцированных расстройств, а также разработки новых подходов к коррекции и/или профилактике эндокринных, иммунных и метаболических нарушений, болевых синдромов при стрессовых нагрузках в изменяющихся условиях внешней среды.

ВЫВОДЫ

1. Концентрация кортикостерона в сыворотке крови крыс снижается через 1 и 2 недели моделирования хронического непредсказуемого мягкого стресса, но впоследствии увеличивается и к окончанию 3-й – 4-й недель повторяющихся стрессорных воздействий практически не отличается от значений у интактных животных.

2. Крысы, подвергнутые многократным стрессорным нагрузкам в течение 1 недели, характеризуются отсутствием наблюдающегося в контроле увеличения массы тела по сравнению с исходным значением. В последующие периоды стрессорных воздействий темп роста животных ниже, а к окончанию 3-й недели наблюдений масса их тела меньше таковой у контрольных особей.

3. Моделирование хронического непредсказуемого мягкого стресса у крыс приводит к повышению уровня глюкозы к окончанию 2-й недели воздействий. Через 3 и 4 недели стрессорных нагрузок концентрация глюкозы в крови животных уменьшается по сравнению со значением в предыдущий период и практически не отличается от таковой у интактных особей.

4. Хронический непредсказуемый мягкий стресс у крыс приводит к разнонаправленным изменениям показателей цитокинового профиля крови по сравнению со значениями у интактных особей. В этих условиях наблюдается снижение уровня ИЛ-4 к окончанию 2-й и 4-й недель наблюдений, но рост содержания ИЛ-10 в сыворотке крови через 2, 3 и 4 недели воздействий.

5. Функциональная активность системы комплемента крови у крыс возрастает через 2 недели ежедневных чередующихся стрессорных нагрузок, но затем снижается и к окончанию 3-й – 4-й недель наблюдений практически не отличается от показателя у интактных животных.

6. Ежедневные чередующиеся стрессорные воздействия у животных приводят к значимому усилению эмоционального компонента ноцицептивной чувствительности через 1 неделю, но не по окончании 2-й, 3-й и 4-й недель

наблюдений. Перцептуальный компонент ноцицепции не изменяется в данных условиях хронического стресса у крыс по сравнению с исходным показателем.

7. Моделирование хронического непредсказуемого мягкого стресса сопровождается появлением отсутствующих у интактных крыс корреляционных связей между ноцицептивными порогами и показателями эндокринных, иммунных и обменных процессов, характер и направленность которых зависят от продолжительности воздействия. Животные, подвернутые стрессорным нагрузкам, характеризуется преимущественно отрицательными корреляциями между анализируемыми физиологическими параметрами. Наибольшее число взаимосвязей выявлено к окончанию 3-й недели стрессорных воздействий.

8. Изменения эндокринных, метаболических и иммунологических параметров, показателей болевой чувствительности у крыс иллюстрируют дисрегуляцию физиологических функций в относительно ранние периоды хронического непредсказуемого мягкого стресса с последующей реализацией адаптивных процессов и тесного межсистемного взаимодействия на поздних сроках многократных стрессорных воздействий.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКТГ – адренотропный гормон

ГАМК – гамма-аминомасляная кислота

ГЭБ – гематоэнцефалический барьер

ГГН-* – гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковый

ИЛ-*(*цифровой или буквенный символ*) – интерлейкин-(*цифровой или буквенный символ*)

ИФН-*(*буквенный символ*) – интерферон-*(*буквенный символ*)

КРГ – кортикотропин-рилизинг гормон

ЛПРОХ – латентный период реакции отведения хвоста

мА – миллиампер

ПВ – порог вокализации

сек – секунды

сут – сутки

ФНО- α – фактор некроза опухоли-альфа

ЦНС – центральная нервная система

ч – часы

CD4+ – кластер дифференцировки 4+ (cluster of differentiation 4+)

IgE – иммуноглобулин E

IgG – иммуноглобулин G

IgM – иммуноглобулин M

ASP – Международная ассоциация по изучению боли (The International Association for the Study of Pain)

НК-клетки – естественные [натуральные] киллеры (natural killer cells)

НКТ-клетки – естественные [натуральные] киллеры Т (natural killer T cells)

Th1 – Т-хелперы 1-го типа

Th2 – Т-хелперы 2-го типа

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова, А. Ю. Современные представления о боли / А. Ю. Абрамова, С. С. Перцов – Текст : непосредственный // Медицинская сестра. – 2019. – № 6, С. 12–17.
2. Абрамова, А. Ю. Ноцицептивные реакции у крыс после однократной длительной стрессорной нагрузки / А. Ю. Абрамова, Е. В. Никенина, А. Ю. Козлов, С. С. Перцов – Текст : непосредственный // Российский журнал боли. – 2018. – № 2 (56). – С. 3-4.
3. Абрамова, А. Ю. Содержание цитокинов в крови у крыс при антигенном воздействии после однократной длительной стрессорной нагрузки / А. Ю. Абрамова, С. С. Перцов, И. В. Алексеева, Е. В. Никенина, А. Ю. Козлов, В. В. Чехлов, М. Е. Чухнина – Текст : непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – № 12. – С. 668-673.
4. Абрамович, С. Г. Физиотерапия боли / С. Г. Абрамович – Текст : непосредственный // Курортная медицина. – 2021. – № 2. – С. 5-18.
5. Алексеева, И. В. Ноцицептивная чувствительность в условиях стрессорных воздействий / И. В. Алексеева, А. Ю. Абрамова, С. С. Перцов – Текст : непосредственный // Российский журнал боли. – 2022. – № 3. – С. 42-51.
6. Алексеева, И. В. Состояние органов–маркеров стресса у крыс после однократной длительной стрессорной нагрузки в условиях введения липополисахарида / И. В. Алексеева, А. Ю. Абрамова, А. Ю. Козлов, Е. В. Коплик, А. С. Перцов, Д. А. Лядов, Е. В. Никенина, С. С. Перцов – Текст : непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – № 5. – С. 561-565.
7. Алексеева, Н. С. Механизмы изменения фагоцитарной активности лейкоцитов при острой висцеральной боли : специальность 14.00.16 «Патологическая физиология»: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук / Алексеева Наталья Сергеевна; ГОУВПО «Ростовский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию». – Ростов-на-Дону, 2009. – 21 с. –

Текст : непосредственный

8. Амбатьелло, Л. Г. Стресс–индуцированная артериальная гипертензия / Л. Г. Амбатьелло – Текст : непосредственный // Терапевтический архив. – 2022. – № 7. – С. 908-913.
9. Анохин, П. К. Биология и нейрофизиология условного рефлекса / П. К. Анохин – Москва : Медицина, 1968. – 546 с. – Текст : непосредственный
10. Анохин, П. К. Очерки по физиологии функциональных систем / П. К. Анохин – Москва : Медицина, 1974. – 446 с. – Текст : непосредственный
11. Анохин, П. К. Теория функциональных систем / П. К. Анохин – Текст : непосредственный // Успехи физиологических наук. – 1970. – № 1. – С. 19-54.
12. Анохин, П. К. Эмоциональное напряжение как предпосылки к развитию неврогенных заболеваний сердечно–сосудистой системы / П. К. Анохин – Текст : непосредственный // Вестник АМН СССР. – 1965. – № 6. – С. 10-18.
13. Арсаханова, Г. А. Формирование противодействия от организма человека на стресс / Г. А. Арсаханова – Текст : непосредственный // Международный журнал прикладных наук и технологий «Integral». – 2020. – № 5. – С.307-315.
14. Глазова, Н. Ю. Эффекты семакса в моделях острого стрессогенного воздействия / Н. Ю. Глазова, Д. М. Манченко, Д. А. Виленский, Е. А. Себенцова, Л. А. Андреева, А. А. Каменский, Л. В. Дергунова, С. А. Лимборская, Н. Ф. Мясоедов, Н. Г. Левицкая – Текст : непосредственный // Российский физиологический журнал им. ИМ Сеченова. – 2023. – № 1. – С. 119-135.
15. Гуцол, Л. О. Стресс (общий адаптационный синдром): лекция / Л. О. Гуцол, Е. В. Гузовская, С. Н. Серебренникова, И. Ж. Семинский – Текст : непосредственный // Байкальский медицинский журнал. – 2022. – № 1. – С. 70-80.
16. Корнева, Е. А. Клеточно-молекулярные основы изменения нейроиммунного взаимодействия при стрессе / Е. А. Корнева, С. Н. Шанин, Н. С. Новикова, В. А. Пугач – Текст : непосредственный // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2017. – № 3. – С. 217-229.
17. Крупина, Н. А. Эффекты хронического мягкого стресса у крыс Вистар и

Август. Поведение и содержание моноаминов в стриатуме / Н. А. Крупина, Н. Н. Хлебникова, И. Н. Орлова, Е. В. Попкова, В. И. Родина, Г. Н. Крыжановский – Текст : непосредственный // Патогенез. – 2013. – № 2. – С. 50-58.

18. Меерсон, Ф. З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам. / Ф. З. Меерсон, М. Г. Пшенникова – Москва : Медицина, 1988. – 251 с. – Текст : непосредственный

19. Меерсон, Ф. З. Защитные эффекты адаптации и некоторые перспективы развития адаптационной медицины / Ф. З. Меерсон – Текст : непосредственный // Успехи физиологических наук – 1991. – № 2. – С. 52-89.

20. Морозов, Б. Б. Актуальные проблемы патофизиологии: избранные лекции / Б. Б. Морозов – Москва : Медицина, 2001. – 424 с. – Текст : непосредственный

21. Мураева, Н. А. Влияние хронического стресса на первичные и вторичные лимфоидные органы крыс и его обратимость в зависимости от продолжительности стрессорного воздействия / Н. А. Мураева, Т. С. Смирнова, Ю. А. Ткаченко, Л. В. Вондрачек – Текст : непосредственный // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2021. – № 2 (78). – С. 177-180.

22. Овсянников, В. Г. Особенности реагирования С3 компонента комплемента при острой боли у крыс / В. Г. Овсянников, М. В. Абрамова, В. В. Алексеев, Ю. Е. Лихачева, Н. С. Алексеева, Н. А. Алексеева, А. Е. Бойченко – Текст : непосредственный // Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины. – 2019. – № 1. – С. 25-31.

23. Патент № 2786208 Российская Федерация, МПК МПК C12Q 1/68, G01N 33/00. Скрининг-тест для определения функциональной активности системы комплемента крысы: № 2022108992 : заявлено 05.04.2022 : опубликовано 19.12.2022 / Карганов М. Ю., Шойбонов Б. Б., Алчинова И. Б., Мавренкова П. В., Деморжи М. С., Терешкина Н. В., Григорьева Д. В., Шойбонова Ц. Б., Толпыго С. М. ; патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина».
– 15 с. – Текст : непосредственный.

24. Перцов, С. С. Влияние ИЛ-1 β на поведение крыс в условиях слабой стрессорной нагрузки при тестировании в открытом поле / С. С. Перцов, Е. В. Коплик, А. С. Симбирцев, Л. С. Калиниченко – Текст : непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – № 11. – С. 488-490.

25. Перцов, С. С. Влияние многократных стрессорных воздействий на цитокиновый профиль крови у крыс с разными показателями поведения / С. С. Перцов, А. Ю. Абрамова, В. В. Чехлов – Текст : непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022. – № 4. – С. 397-401.

26. Перцов, С. С. Динамика изменений двигательной активности и уровня тепловыделения у крыс после острой стрессорной нагрузки / С. С. Перцов, И. В. Алексеева, Е. В. Коплик, Н. Э. Шаранова, Н. В. Кирбаева, М. М. Г. Гаппаров – Текст : непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2014. – № 1. – С. 14-18.

27. Перцов, С. С. Поведение крыс при смещении светового режима и введении мелатонина / С. С. Перцов – Текст : непосредственный // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2005. – № 7. – С. 802-809.

28. Перцов, С. С. Роль супрахиазматического ядра гипоталамуса в реализации эффектов мелатонина на тимус, надпочечники и селезенку крыс / С. С. Перцов – Текст : непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2006. – № 4. – С. 364-367.

29. Перцов, С. С. Сравнительный анализ действия цитокинов на состояние тимуса, надпочечников и селезенки у крыс с разными поведенческими характеристиками / С. С. Перцов, Е. В. Коплик, Л. С. Калиниченко – Текст : непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – № 9. – С. 244-247.

30. Перцов, С. С. Физиология боли и антиноцицептивной системы. Нейрофизиологические, нейрохимические и иммунные механизмы / С. С. Перцов,

В. П. Дегтярев, Н. Д. Сорокина, А. Ю. Абрамова, А. Ю. Козлов – Москва : Мозартика, 2021. – 88 с. – Текст : непосредственный.

31. Перцов, С. С. Цитокиновый профиль крови у крыс с разными характеристиками поведения после однократной длительной стрессорной нагрузки / С. С. Перцов, А. Ю. Абрамова, В. В. Чехлов, Е. В. Никенина – Текст : непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – № 2. – С. 160-165.

32. Рахматулина, Э. Х. Неинвазивные методы оценки стресс-индуцированных изменений гормонального и иммунного гомеостаза / Э. Х. Рахматулина, С. Н. Теплова, Д. А. Альтман – Текст : непосредственный // Вестник южно-уральского государственного университета. Серия: «Образование, здравоохранение, физическая культура». – 2009. – № 7 (140). – С. 13-19.

33. Сердобинцев, К. В. Система комплемента (Часть 1). / К. В. Сердобинцев – Текст : непосредственный // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2016. – № 45. – С. 41-48.

34. Скрипкина, Д. В. Ноцицептивная чувствительность и масса тела у крыс в условиях хронического непредсказуемого стресса / Д. В. Скрипкина, А. Ю. Абрамова, Е. В. Никенина, С. С. Перцов – Текст : непосредственный // Российский журнал боли. – 2024. – № 2. – С. 5-10.

35. Скрипкина, Д. В. Уровень кортикостерона и глюкозы в крови крыс в условиях хронического непредсказуемого стресса разной длительности / Д. В. Скрипкина, А. Ю. Абрамова, Б. Б. Шойбонов, И. В. Алексеева, Е. В. Никенина, С. С. Перцов – Текст : непосредственный // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова – 2024. – № 4. – С. 273-280.

36. Скрипкина, Д. В. Уровень цитокинов и С3-комплемента в крови крыс в условиях хронического непредсказуемого стресса разной длительности / Д. В. Скрипкина, А. Ю. Абрамова, Б. Б. Шойбонов, И. В. Алексеева, Е. В. Никенина, С. С. Перцов – Текст : непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2024. – № 3. – С. 280-284.

37. Субботина, А. Ю. Возрастные и гендерные особенности показателей цитокинового профиля крови у крыс после пренатального стресса / А. Ю. Субботина, А. С. Мартюшева, А. М. Ратмиров, А. Ю. Абрамова, И. В. Алексеева, С. С. Перцов – Текст : непосредственный // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2022. – № 9. – С. 278-283.
38. Судаков, К. В. Избранные труды. Том 3. Эмоции и эмоциональный стресс / К. В. Судаков – Москва : НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, 2012. – 534 с. – Текст : непосредственный.
39. Судаков, К. В. Системные основы эмоционального стресса / К. В. Судаков, П. Е. Умрюхин – Москва, 2009. – 105 с. – Текст : непосредственный.
40. Судаков, К. В. Социальные и биологические аспекты психоэмоционального стресса: пути защиты от его нежелательных последствий / К. В. Судаков – Текст : непосредственный // Вестник Международной академии наук. Русская секция. – 2006. – № 1. – С. 8-14.
41. Судаков, К. В. Теория функциональных систем и ее применение в физиологии и медицине / К. В. Судаков – Текст : непосредственный // Новости медико-биологических наук (Минск). – 2004. – № 4. – С. 109-133.
42. Тарасова, И.В. Система комплемента / И. В. Тарасова – Текст : непосредственный // Аллергология и иммунология в педиатрии. – 2010. – № 2. – С. 21.
43. Физиология: учебник для использования в учебном процессе образовательных организаций, реализующих программы высшего образования по специальностям 31.05.01 «Лечебное дело», 31.05.02 «Педиатрия» – 6-е издание, исправленное и дополненное. / Н. А. Барбараш, М. Д. Берг, Н. Р. Григорьев [и др.]; под редакцией В. М. Смирнова, Д. С. Свешникова, А. Е. Умрюхина – Москва: Издательство «Медицинское информационное агентство». – 2019. – 520 с. – Текст : непосредственный.
44. Чехлов, В. В. Ноцицептивная чувствительность у крыс при многократных стрессорных воздействиях / В. В. Чехлов, А. Ю. Козлов, А. Ю. Абрамова – Текст :

- непосредственный // Российский журнал боли. – 2015. – №.1 (46). – С. 38-39.
45. Яхно, Н. Н. Новое определение боли Международной ассоциации по изучению боли / Н. Н. Яхно, М. Л. Кукушкин, М. В. Чурюканов, О. С. Давыдов, М. А. Бахтадзе – Текст : непосредственный // Российский журнал боли. – 2020. – № 4. – С. 5-7.
46. Abdallah, C. G. Chronic pain and chronic stress: two sides of the same coin? / C. G. Abdallah, P. Geha – Text : visual // Chronic Stress. – 2017. – Vol. 1. – P. 1-10.
47. Agorastos, A. The neuroendocrinology of stress: the stress-related continuum of chronic disease development. / A. Agorastos, G. P. Chrousos – Text : visual // Molecular Psychiatry. – 2022. – Vol. 27. – P. 502-513.
48. Ahrén, B. Acylation stimulating protein stimulates insulin secretion. / B. Ahrén, P. Havel, G. Pacini, K. Cianflone – Text : visual // International Journal of Obesity. – 2003. – Vol. 27. – P. 1037-1043.
49. Akana, S.F. Feedback and facilitation in the adrenocortical system: unmasking facilitation by partial inhibition of the glucocorticoid response to prior stress. / S. F. Akana, M. F. Dallman, M. J. Bradbury, K. A. Scribner, A. M. Strack, C. D. Walker – Text : visual // Endocrinology. – 1992. – Vol. 131. – P. 57-68.
50. Al’Absi, M. Stress and pain: modality-specific opioid mediation of stress-induced analgesia / M. Al’Absi, M. Nakajima, S. Bruehl – Text : visual // Journal of Neural Transmission. – 2021. – Vol. 128, № 9. – P. 1397-1407.
51. Alexander, J. J. Blood-brain barrier (BBB) and the complement landscape. / J. J. Alexander – Text : visual // Molecular Immunology. – 2018. – Vol. 102. – P. 26–31.
52. Alexander, J. J. The complement cascade: Yin–Yang in neuroinflammation—neuro-protection and –degeneration. / J. J. Alexander, A. J. Anderson, S. R. Barnum, B. Stevens, A. J. Tenner – Text : visual // Journal of Neurochemistry. – 2008. – Vol. 107, № 5. – P. 1169-1187.
53. Amara, U. Interaction between the coagulation and complement system / U. Amara, D. Rittirsch, M. Flierl, U. Bruckner, A. Klos, F. Gebhard, J. D. Lambris, M. Huber-Lang – Text : visual // Current topics in complement II. – 2008. – P. 68-76.

54. Andero, R. Impact of stress on brain morphology: insights into structural biomarkers of stress-related disorders / R. Andero, M. Cano, I. Marin-Blasco, M. Serra-Blasco, E. Via, M. Vicent-Gil, M. J. Portella – Text : visual // *Current neuropharmacology*. – 2024. – Vol. 22, № 5. – P. 935-962.
55. Anisman, H. Stress, depression, and anhedonia: caveats concerning animal models. / H. Anisman, K. Matheson – Text : visual // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 2005. – Vol. 29, № 4–5. – P. 525-546.
56. Armario, A. Focusing attention on biological markers of acute stressor intensity: Empirical evidence and limitations / A. Armario, J. Labad, R. Nadal – Text : visual // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 2020. – Vol. 111. – P. 95-103.
57. Armstrong, S. A. Physiology, nociception. / S. A. Armstrong, M. J. Herr – Treasure Island (FL): StatPearls, 2024 – PMID: 31855389. – Text : electronic. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551562>. - Published : May 2023.
58. Axtamovna, H. N. Study of the Influence of Stress Factors on Animals. / H. N. Axtamovna – Text : visual // *American Journal of Pediatric Medicine and Health Sciences*. – 2023. – Vol. 1, № 3. – P. 106-111.
59. Baghani, M. Orexin receptors in the hippocampal dentate gyrus modulated the restraint stress-induced analgesia in the animal model of chronic pain. / M. Baghani, A. Bolouri-Roudsari, R. Askari, A. Haghparast – Text : visual // *Behavioural Brain Research*. – 2024. – Vol. 459. – P. 114772.
60. Beaupere, C. Molecular Mechanisms of Glucocorticoid-Induced Insulin Resistance. / C. Beaupere, A. Liboz, B. Fève, B. Blondeau, G. Guillemain – Text : visual // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2021. – Vol. 22. – P. 623.
61. Belo, T. C. A. IL-10/ β -Endorphin-Mediated Neuroimmune Modulation on Microglia during Antinociception. / T. C. A. Belo, G. X. Santos, B. E. G. Da Silva, B. L. G. Rocha, D. W. Abdala, L. A. M. Freire, F. S. Rocha, G. Galdino – Text : visual // *Brain Sciences*. – 2023. – Vol. 13, № 5. – P. 789.
62. Beurel, E. Stress in the microbiome-immune crosstalk / E. Beurel – Text : visual // *Gut Microbes*. – 2024. – Vol. 16, № 1. – P. 1-23.

63. Blanco, S. Stem cell function and stress response are controlled by protein synthesis. / S. Blanco, R. Bandiera, M. Popis, S. Hussain, P. Lombard, J. Aleksic, A. Sajini, H. Tanna, R. Cortés–Garrido, N. Gkatza, S. Dietmann, M. Frye – Text : visual // *Nature*. – 2016. – Vol. 534. – P. 335-340.
64. Ban, E. G. The role of the endogenous neurotransmitters associated with neuropathic pain and in the opioid crisis: The innate pain–relieving system / E. G. Ban, A. Brassai, E. S. Vizi – Text : visual // *Brain Research Bulletin*. – 2020. – Vol. 155. – P. 129-136.
65. Campmany, L. The effects of two chronic intermittent stressors on brain monoamines. / L. Campmany, O. Pol, A. Armario – Text : visual // *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. – 1996. – Vol. 53. – P. 517–523.
66. Cannon, W. B. Bodily Changes in Pain, Hunger, Fear and Rage / W. B. Cannon – New York: Appleton – Century, 1915. – 311 p. – Text : visual
67. Cannon, W. B. Stresses and strains of homeostasis / W. B. Cannon – Text : visual // *American Journal of the Medical Sciences*. – 1935. – Vol. 189, № 1. – P. 13-14.
68. Celik, M. O. IL–4 induces M2 macrophages to produce sustained analgesia via opioids. / M. O. Celik, D. Labuz, J. Keye, R. Glauben, H. Machelska – Text : visual // *JCI Insight*. – 2020. – Vol. 5, № 4. – P. 1-16.
69. Chan, K. L. Central regulation of stress–evoked peripheral immune responses / K. L. Chan, W. C. Poller, F. K. Swirski, S. J. Russo – Text : visual // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2023. – Vol. 24, № 10. – P. 591-604.
70. Chen, H. J. C. Complement C5a Receptor Signaling Alters Stress Responsiveness and Modulates Microglia Following Chronic Stress Exposure / H. J. C. Chen, G. Spiers, T. Lerskiatiphanich, S. E. Parker, N. A. Lavidis, J. N. Fung, T. M. Woodruff, J. D. Lee – Text : visual // *Biological Psychiatry Global Open Science*. – 2024. – Vol. 4, № 3. – P. 1-10.
71. Chen, Z. Upregulation of IL–4 signaling contributes to aerobic exercise–induced insulin sensitivity. / Z. Chen, X. Qin, X. Zhang, B. Liu, M. Chen – Text : visual // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2020. – Vol. 525, № 3. – P.

662–667.

72. Commins, S. The extended IL–10 superfamily: IL–10, IL–19, IL–20, IL–22, IL–24, IL–26, IL–28, and IL–29. / S. Commins, J. W. Steinke, L. Borish – Text : visual // *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. – 2008. – Vol. 121. – P. 1108-1111.

73. Corder, G. Endogenous and Exogenous Opioids in Pain. / G. Corder, D. C. Castro, M. R. Bruchas, G. Scherrer – Text : visual // *Annual Review of Neuroscience*. – 2018. – Vol. 41. – P. 453–473.

74. Damman, J. Crosstalk between complement and Toll-like receptor activation in relation to donor brain death and renal ischemia-reperfusion injury / J. Damman, M. R. Daha, W. J. van Son, H. G. Leuvenink, R. J. Ploeg, M. A. Seelen – Text : visual // *American Journal of Transplantation*. – 2011. – Vol. 11, № 4. – P. 660-669.

75. D'Amour, F. E. A method for determining loss of pain sensation / F. E. D'Amour, D. L. Smith – Text : visual // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 1941. – № 72. – P. 74-78.

76. Darcq, E. Opioid receptors: Drivers to addiction? / E. Darcq, B. L. Kieffer – Text : visual // *Nature Reviews Neuroscience*. – 2018. – Vol. 19. – P. 499-514.

77. Datson, N. A. Previous history of chronic stress changes the transcriptional response to glucocorticoid challenge in the dentate gyrus region of the male rat hippocampus. / N. A. Datson, J. M. Van den Oever, O. B. Korobko, A. M. Magarinos, E. R. De Kloet, B. S. McEwen – Text : visual // *Endocrinology*. – 2013. – Vol. 154, № 9. – P. 3261-3272.

78. De Guia, R. M. Stress, glucocorticoid signaling pathway, and metabolic disorders. / R. M. De Guia – Text : visual // *Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity - Dove Press*. – 2020. – Vol. 14, № 5. – P. 1273-1280.

79. Dee, G. Epigenetic changes associated with different types of stressors and suicide / G. Dee, R. Ryznar, C. Dee – Text : visual // *Cells*. – 2023. – Vol. 12. – № 9. – P. 1-33.

80. Dhabhar, F. S. Stress–induced enhancement of immune function / F. S. Dhabhar – Text : visual // *Stress: Immunology and Inflammation*. – Academic Press. – 2024. – P. 31-38.

81. Di Dalmazi, G. Glucocorticoids and type 2 diabetes: from physiology to pathology. / G. di Dalmazi, U. Pagotto, R. Pasquali, V. Vicennati – Text : visual // *Journal of Nutrition and Metabolism*". – 2012. – Vol. 2012. – P. 1-9.
82. Dow–Edwards, D. Sex differences in the interactive effects of early life stress and the endocannabinoid system. / D. Dow–Edwards – Text : visual // *Neurotoxicology and Teratology*. – 2020. – Vol. 80. – P. 1-14.
83. Du, Y. The Contributions of Mu–Opioid Receptors on Glutamatergic and GABAergic Neurons to Analgesia Induced by Various Stress Intensities. / Y. Du, K. Yu, C. Yan, C. Wei, Q. Zheng, Y. Qiao, Y. Liu, J. Han, W. Ren, Z. Liu – Text : visual // *eNeuro*. – 2022. – Vol. 9, № 3. – P. 1-16.
84. Duque, E. A. The pro–inflammatory effects of glucocorticoids in the brain / E. A. Duque, C. D. Munhoz – Text : visual // *Frontiers in endocrinology*. – 2016. – Vol. 7. – P. 1-7.
85. Egle, U. T. Bio–psycho–social therapy for stress–induced chronic pain / U. T. Egle, C. Seeher, K. Cattapan – Text : visual // *Praxis*. – 2020. – Vol. 109, № 4. – P. 259–263.
86. Elenkov, I. J. Glucocorticoids and the Th1/Th2 balance. / I. J. Elenkov – Text : visual // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2004. – Vol. 1024. – P. 138-146.
87. Elsaid, N. Impact of stress and hypertension on the cerebrovasculature. / N. Elsaid, A. Saied, H. Kandil, A. Soliman, F. Taher, M. Hadi, G. Giridharan, R. Jennings, M. Casanova, R. Keynton, A. El–Baz – Text : visual // *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*. – 2021. – Vol. 26, № 12. – P. 1643-1652.
88. Flak, J. N. Identification of chronic stress–activated regions reveals a potential recruited circuit in rat brain. / J. N. Flak, M. B. Solomon, R. Jankord, E. G. Krause, J. P. Herman – Text : visual // *European Journal of Neuroscience*. – 2012. – Vol. 36. – P. 2547-2555.
89. Gallegos–Gonzalez, G. Association between Stress and Metabolic Syndrome and its Mediating Factors in University Students. / G. Gallegos–Gonzalez, G. Pineda–García, A. Serrano–Medina, A.L. Martinez, E. Ochoa–Ruiz – Text : visual // *American Journal of Health Behavior*. – 2021. – Vol. 15, № 45 (6). – P. 1091-1102.

90. Garcia, A. Recovery of the hypothalamic–pituitary–adrenal response to stress. Effect of stress intensity, stress duration and previous stress exposure. / A. Garcia, O. Marti, A. Valles, S. Dal–Zotto, A. Armario – Text : visual // *Neuroendocrinology*. – 2000. – Vol. 72. – P. 114-125.
91. Ghosal, S. Ketamine rapidly reverses stress–induced impairments in GABAergic transmission in the prefrontal cortex in male rodents / S. Ghosal, C. H. Duman, R. J. Liu, M. Wu, R. Terwilliger, M. J. Girgenti, E. Wohleb, M. V. Fogaca, E. M. Teichman, B. Hare, R. S. Duman – Text : visual // *Neurobiology of disease*. – 2020. – Vol. 134. – P. 104669.
92. Gray, J. D. Hippocampal gene expression changes underlying stress sensitization and recovery. / J. D. Gray, T. G. Rubin, R. G. Hunter, B. S. McEwen – Text : visual // *Molecular Psychiatry*. – 2014. – Vol. 19, № 11. – P. 1171-1178.
93. Grissom, N. Habituation to repeated stress: get used to it. / N. Grissom, S. Bhatnagar – Text : visual // *Neurobiology of Learning and Memory*. – 2009. – Vol. 92. – P. 215-224.
94. Groves, P. M. Habituation: a dual-process theory / P. M. Groves, R. F. Thompson – Text : visual // *Psychological review*. – 1970. – Vol. 77, № 5. – P. 419.
95. Ha, G. E. Chronic Restraint Stress Decreases the Excitability of Hypothalamic POMC Neuron and Increases Food Intake. / G. E. Ha, E. Cheong – Text : visual // *Experimental Neurobiology*. – 2021. – Vol. 30, № 6. – P. 375-386.
96. Hassamal, S. Chronic stress, neuroinflammation, and depression: an overview of pathophysiological mechanisms and emerging anti–inflammatories. / S. Hassamal – Text : visual // *Frontiers in Psychiatry*. – 2023. – Vol. 11, № 14. – P. 1-18.
97. Heidt, T. Chronic variable stress activates hematopoietic stem cells. / T. Heidt, H. B. Sager, G. Courties, P. Dutta, Y. Iwamoto, A. Zaltsman, C. Muhlen, C. Bode, G. L. Fricchione, J. Denninger, C. P. Lin, C. Vinegoni, P. Libby, F. K. Swirski, R. Weissleder, M. Nahrendorf – Text : visual // *Nature medicine*. – 2014. – Vol. 20, № 7. – P. 754-758.
98. Herman, J. P. Neural control of chronic stress adaptation. / J. P. Herman – Text : visual // *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. – 2013. – Vol. 7. – P. 61.

99. Himmerich, H. Stress-induced cytokine changes in rats. / H. Himmerich, J. Fischer, K. Bauer, K. C. Kirkby, U. Sack, U. Krügel – Text : visual // *Eur. Cytokine Netw.* – 2013. – Vol. 24, № 2. – P. 97-103.
100. Hong, M. Imbalance between Th17 and Treg cells may play an important role in the development of chronic unpredictable mild stress-induced depression in mice. / M. Hong, J. Zheng, Z. Y. Ding, J. H. Chen, L. Yu, Y. Niu, Y. Q. Hua, L. L. Wang – Text : visual // *Neuroimmunomodulation.* – 2013. – Vol. 20, № 1. – P. 39-50.
101. Hou, X. GABAergic system in stress: implications of GABAergic neuron subpopulations and the gut-vagus-brain pathway / X. Hou, C. Rong, F. Wang, X. Liu, Y. Sun, H. T. Zhang – Text : visual // *Neural Plasticity.* – 2020. – Vol. 2020. – P. 1-11.
102. Hu, C. Re-evaluation of the interrelationships among the behavioral tests in rats exposed to chronic unpredictable mild stress / C. Hu, Y. Luo, H. Wang, S. Kuang, G. Liang, Y. Yang, S. Mai, J. Yang – Text : visual // *PloS one.* – 2017. – Vol. 12, № 9. – P. 1-15.
103. Huang, J. A neuronal circuit for activating descending modulation of neuropathic pain. / J. Huang, V. M. Gadotti, L. Chen, I. A. Souza, S. Huang, D. Wang, C. Ramakrishnan, K. Deisseroth, Z. Zhang, G. W. Zamponi – Text : visual // *Nature Neuroscience.* – 2019. – Vol. 22. – P. 1659-1668.
104. Ide, S. Amelioration of the reduced antinociceptive effect of morphine in the unpredictable chronic mild stress model mice by noradrenalin but not serotonin reuptake inhibitors. / S. Ide, H. Satoyoshi, M. Minami, M. Satoh – Text : visual // *Molecular Pain.* – 2015. – Vol. 11. – P. 47.
105. Imbe, H. Stress-induced hyperalgesia: animal models and putative mechanisms. / H. Imbe, Y. Iwai-Liao, E. Senba – Text : visual // *Frontiers in Bioscience.* – 2006. – Vol. 11. – P. 2179-2192.
106. Ince, E. Oxidative stress in lymphoid tissues and complement activation in alcoholic mother rats and their newborns / E. Ince, F. Curabeyoğlu, S. Akyol – Text : visual // *General Physiology and Biophysics.* – 2019 – Vol. 38, №.1. – P. 91-100.
107. Ingrosso, D. M. F. Stress and diabetes mellitus: pathogenetic mechanisms and

clinical outcome / D. M. F. Ingrosso, M. Primavera, S. Samvelyan, V. M. Tagi, F. Chiarelli – Text : visual // *Hormone Research in Paediatrics*. – 2023. – Vol. 96, № 1. – P. 34-43.

108. Ip, C. K. Amygdala NPY Circuits Promote the Development of Accelerated Obesity under Chronic Stress Conditions. / C. K. Ip, L. Zhang, A. Farzi, Y. Qi, I. Clarke, F. Reed, Y. C. Shi, R. Enriquez, C. Dayas, B. Graham, D. Begg, J. C. Brüning, N. J. Lee, D. Hernandez–Sanchez, G. Gopalasingam, J. Koller, R. Tasan, G. Sperk, H. Herzog – Text : visual // *Cell Metabolism*. – 2019. – Vol. 30, № 1. – P. 111-128.

109. Ipseiz, N. Tissue–resident macrophages actively suppress IL–1beta release via a reactive prostanoid/IL–10 pathway. / N. Ipseiz, R. J. Pickering, M. Rosas, V. J. Tyrrell, L. C. Davies, S. J. Orr, M. A. Czubala, D. Fathalla, A. A. Robertson, C. E. Bryant, V. O'Donnell, P. R. Taylor – Text : visual // *The EMBO Journal*. – 2020. – Vol. 39, № 14. – P. 1-17.

110. James, K. A. Understanding the relationships between physiological and psychosocial stress, cortisol and cognition. / K. A. James, J. I. Stromin, N. Steenkamp, M. I. Combrinck – Text : visual // *Frontiers in Endocrinology (Lausanne)*. – 2023. – Vol. 6, № 14. – P. 1-20.

111. Jung, Y. H. Relationships among stress, emotional intelligence, cognitive intelligence, and cytokines. / Y. H. Jung, N. Y. Shin, J. H. Jang, W. J. Lee, D. Lee, Y. Choi, S. H. Choi, D. H. Kang – Text : visual // *Medicine (Baltimore)*. – 2019. – Vol. 98, № 18. – P. 1-9.

112. Kalinichenko, L. S. Cytokine profile of peripheral blood in rats with various behavioral characteristics during acute emotional stress. / L.S. Kalinichenko, E. V. Koplik, S. S. Pertsov – Text : visual // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2014. – Vol. 156, № 4. – P. 441-444.

113. Katz, R. J. Animal models and human depressive disorders. / R. J. Katz – Text : visual // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 1981. – Vol. 5, № 2. – P. 231-246.

114. Kaur, K. K. An Update on Role of Aerobic Exercise and Endocannabinoids Over Stress Controlling Along with Brain Reward System: A Narrative Review. / K. K. Kaur,

G. N. Allahbadia, M. Singh – Text : visual // Journal of Neurology and Psychiatry Research. – 2024. – Vol. 2, № 2. – P. 1-13.

115. Keegan, A. D. Recent advances in understanding the role of IL–4 signaling. / A. D. Keegan, W. J. Leonard, J. Zhu – Text : visual // Faculty Reviews. – 2021. – Vol. 10 – P. 71.

116. Khalilov, R. Mechanisms of insulin action and insulin resistance / R. Khalilov, S. Abdullayeva – Text : visual // Advances in Biology & Earth Sciences. – 2023. – Vol. 8, № 2. – P. 165-179.

117. Khan, A. R. Stress–Induced Morphological, Cellular and Molecular Changes in the Brain–Lessons Learned from the Chronic Mild Stress Model of Depression / A. R. Khan, L. Geiger, O. Wiborg, B. Czéh – Text : visual // Cells. – 2020. – Vol. 9, № 4. – P. 1-26.

118. Kim, E. J. Neurocognitive effects of stress: a metaparadigm perspective / E. J. Kim, J. J. Kim – Text : visual // Molecular Psychiatry. – 2023. – Vol. 28, № 7. – P. 2750-2763.

119. Knezevic, E. The Role of Cortisol in Chronic Stress, Neurodegenerative Diseases, and Psychological Disorders / E. Knezevic, K. Nenic, V. Milanovic, N. N. Knezevic – Text : visual // Cells. – 2023. – Vol. 12, № 23. – P. 1-18.

120. Koldzic–Zivanovic, N. Regulation of adrenal glucocorticoid synthesis by interleukin–10: a preponderance of IL–10 receptor in the adrenal zona fasciculata. / N. Koldzic–Zivanovic, H. Tu, T. L. Juelich, P. L. Rady, S. K. Tyring, S. D. Hudnall, E. M. Smith, T. K. Hughes – Text : visual // Brain, Behavior, and Immunity. – 2006. – Vol. 20, № 5. – P. 460-468.

121. Kumar, S. Mechanism and recent updates on insulin–related disorders. / S. Kumar, S. Senapati, N. Bhattacharya, A. Bhattacharya, S. K. Maurya, H. Husain, J. S. Bhatti, A. K. Pandey – Text : visual // World Journal of Clinical Cases. – 2023 – Vol. 11, № 25. – P. 5840-5856.

122. Kuo, T. Regulation of Glucose Homeostasis by Glucocorticoids. / T. Kuo, A. McQueen, T. C. Chen, J. C. Wang – Text : visual // Advances in Experimental Medicine and Biology. – 2015. – Vol. 872. – P. 99-126.

123. Kuti, D. The metabolic stress response: Adaptation to acute–, repeated– and

chronic challenges in mice. / D. Kuti, Z. Winkler, K. Horváth, B. Juhász, A. Szilvásszabó, C. Fekete, S. Ferenczi, K. J. Kovács – Text : visual // *iScience*. – 2022. – Vol. 25, № 8. – P. 1-16.

124. Larche, M. Regulatory T cells in allergy and asthma. / M. Larche – Text : visual // *Chest*. – 2007. – Vol. 132, № 3. – P. 1007-1014.

125. Le Bars, D. Animal models of nociception / D. le Bars, M. Gozariu, S. W. Cadden – Text : visual // *Pharmacological Reviews*. – 2001. – Vol. 53, № 4. – P. 597-652.

126. Lempesis, I. G. Role of stress in the pathogenesis of cancer / I. G. Lempesis, V. E. Georgakopoulou, P. Papalexis, G. P. Chrousos, D. A. Spandidos – Text : visual // *International Journal of Oncology*. – 2023. – Vol. 63, № 5. – P. 1-14.

127. Levasseur, B. M. Evidence of early life stress exposure and epigenetic modifications in functional chronic pain disorders / B. M. Levasseur, E. E. Young, J. A. Christianson – Text : visual // *Visceral Pain*. – 2023. – P. 55-69.

128. Levine, J. D. The role of the polymorphonuclear leukocyte in hyperalgesia. / J. D. Levine, J. Gooding, P. Donatoni, L. Borden, E. J. Goetzl – Text : visual // *Journal of Neuroscience*. – 1985. – Vol. 5, № 11. – P. 3025-3029.

129. Liebold, I. Apoptotic cell identity induces distinct functional responses to IL-4 in efferocytic macrophages. / I. Liebold, A. al Jawazneh, C. Casar, C. Lanzloth, S. Leyk, M. Hamley, M. N. Wong, D. Kyliès, S. K. Gräfe, I. Edenhofer, I. Aranda-Pardos, M. Kriwet, H. Haas, J. Krause, A. Hadjilaou, A. B. Schromm, U. Richardt, P. Eggert, D. Tappe, S. A. Weidemann, S. Ghosh, C. F. Krebs, N. A-Gonzalez, A. Worthmann, A. W. Lohse, S. Huber, C. V. Rothlin, V. G. Puellas, T. Jacobs, N. Gagliani, L. Bosurgi – Text : visual // *Science*. – 2024. – Vol. 384 – P. 7027.

130. Lin, L. Plasma complement 3 and complement 4 are promising biomarkers for distinguishing NMOSD from MOGAD and are associated with the blood-brain-barrier disruption in NMOSD / L. Lin, Y. Wu, H. Hang, J. Lu, Y. Ding – Text : visual // *Frontiers in Immunology*. – 2022. – Vol. 13. – P. 1-9.

131. Lin, M. Activation of the High-Affinity Choline Transporter 1 in the Spinal Cord Relieves Stress-Induced Hyperalgesia / M. Lin, G. Hu, Z. Wang, B. Yu, W. Tan – Text :

- visual // Digestive Diseases and Sciences. – 2023. – Vol. 68, № 6. – P. 2414-2426.
132. Lin, S. Y. Interleukin-4 Improves Metabolic Abnormalities in Leptin-Deficient and High-Fat Diet Mice. / S. Y. Lin, C. P. Yang, Y. Y. Wang, C. W. Hsiao, W. Y. Chen, S. L. Liao, Y. L. Lo, Y. H. Chang, C. J. Hong, C. J. Chen – Text : visual // International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21, № 12. – P. 1-19.
133. Lisco, G. Chronic Stress as a Risk Factor for Type 2 Diabetes: Endocrine, Metabolic, and Immune Implications / G. Lisco, V. A. Giagulli, G. de Pergola, E. Guastamacchia, E. Jirillo, E. Vitale, V. Triggiani– Text : visual // Endocrine, Metabolic & Immune Disorders–Drug Targets (Formerly Current Drug Targets–Immune, Endocrine & Metabolic Disorders). – 2024. – Vol. 24, № 3. – P. 321-332.
134. Lumertz, F. S. Effects of early life stress on brain cytokines: A systematic review and meta-analysis of rodent studies. / F. S. Lumertz, E. Kestering–Ferreira, R. Orso, K. C. Creutzberg, S. G. Tractenberg, B. A. Stocchero, T. W. Viola, R. Grassi–Oliveira – Text : visual // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. – 2022. – Vol. 139. – P. 104746.
135. Maalouf, E. Depression, anxiety, insomnia, stress, and the way of coping emotions as risk factors for ischemic stroke and their influence on stroke severity: A case-control study in Lebanon / E. Maalouf, S. Hallit, P. Salameh, H. Hosseini – Text : visual // Frontiers in psychiatry. – 2023. – Vol. 14. – P. 1-15.
136. Malyshev, I. Y. Stress, adaptation, and nitric oxide / I. Y. Malyshev, E. B. Manukhina– Text : visual // Biochemistry (Moscow). – 1998. – Vol. 63. – P. 840-853.
137. Marti, O. Direct evidence for chronic stress-induced facilitation of the adrenocorticotropin response to a novel acute stressor. / O. Marti, A. Gavalda, F. Gomez, A. Armario – Text : visual // Neuroendocrinology – 1994. – Vol. 60. – P. 1-7.
138. Mason, J. W. Specificity in the organization of neuroendocrine response profiles / J. W. Mason – Text : visual // Frontiers in neurology and neuroscience research. – 1974. – P. 68-80.
139. Masood, B. Causes of obesity: a review / B. Masood, M. Moorthy – Text : visual // Clinical Medicine. – 2023. – Vol. 23, № 4. – P. 284-291.
140. Mastorakos, P. The anatomy and immunology of vasculature in the central nervous

system / P. Mastorakos, D. McGavern – Text : visual // *Science immunology*. – 2019. – Vol. 4, № 37. – P. 1-29.

141. Mathern, D. R. Molecules Great and Small: The Complement System / D. R. Mathern, P. S. Heeger – Text : visual // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*. – 2015. – Vol. 10, № 9. – P. 1636-1650.

142. McCarty, R. Chronic stress and sympathetic–adrenal medullary responsiveness. / R. McCarty, K. Horwatt, M. Konarska – Text : visual // *Social Science & Medicine*. – 1988. – Vol. 26, № 3. – P. 333-341.

143. McCarty, R. Stress research: principles, problems and prospects / R. McCarty – Text : visual // *Stress: Neurochemical and Humoral Mechanisms* (Gordon & Breach, New York). – 1989. – P. 3-13.

144. McEwen, B. S. Mechanisms of stress in the brain. / B. S. McEwen, N. Bowles, J. Gray, M. N. Hill, R. G. Hunter, I. N. Karatsoreos, C. Nasca – Text : visual // *Nature Neuroscience*. – 2015. – Vol. 18. – P. 1353-1363.

145. McEwen, B. S. Central effects of stress hormones in health and disease: Understanding the protective and damaging effects of stress and stress mediators / B. S. McEwen – Text : visual // *European Journal of Pharmacology*. – 2008. – Vol. 583, № 2–3. – P. 174-185.

146. McEwen, B. S. Plasticity of the hippocampus: adaptation to chronic stress and allostatic load / B. S. McEwen – Text : visual // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2001. – Vol. 933. – P. 265-277.

147. McEwen, B. S. Protective and damaging effects of stress mediators / B. S. McEwen – Text : visual // *New England Journal of Medicine*. – 1998. – Vol. 338, № 3. – P. 171-179.

148. McEwen, B. S. Revisiting the Stress Concept: Implications for Affective Disorders. / B. S. McEwen, H. Akil – Text : visual // *Journal of Neuroscience*. – 2020. – Vol. 40, № 1. – P. 12-21.

149. Merle, N. S. Complement System Part II: Role in Immunity / N. S. Merle, R. Noe, L. Halbwachs–Mecarelli, V. Fremeaux–Bacchi, L. T. Roumenina – Text : visual //

Frontiers in Immunology. – 2015. – Vol. 6. – P. 257.

150. Miller, F. W. The increasing prevalence of autoimmunity and autoimmune diseases: an urgent call to action for improved understanding, diagnosis, treatment, and prevention / F. W. Miller – Text : visual // Current opinion in immunology. – 2023. – Vol. 80. – P. 1-16.

151. Mollazadeh, H. Immune modulation by curcumin: The role of interleukin–10. / H. Mollazadeh, A. F. G. Cicero, C. N. Blesso, M. Pirro, M. Majeed, A. Sahebkar – Text : visual // Critical Reviews In Food Science and Nutrition. – 2019. – Vol. 59, № 1. – P. 89-101.

152. Morakinyo, A. O. Restraint stress impairs glucose homeostasis through altered insulin signalling in Sprague–Dawley rat. / A. O. Morakinyo, K. I. Ajiboye, G. O. Oludare, T. A. Samuel – Text : visual // Nigerian Journal of Physiological Sciences. – 2016. – Vol. 31, № 1. – P. 23-29.

153. Nakamoto, K. Stress–Induced Changes in the Endogenous Opioid System Cause Dysfunction of Pain and Emotion Regulation. / K. Nakamoto, S. Tokuyama – Text : visual // International Journal of Molecular Sciences. – 2023. – Vol. 24, № 14. – P. 1–18.

154. Nesargikar, P. N. The complement system: History, pathways, cascade and inhibitors. / P. N. Nesargikar, B. Spiller, R. Chavez – Text : visual // European Journal of Microbiology and Immunology. – 2012. – Vol. 2, № 2. – P. 103-111.

155. Nijs, J. Sleep disturbances and severe stress as glial activators: key targets for treating central sensitization in chronic pain patients? / J. Nijs, M. L. Loggia, A. Polli, M. Moens, E. Huysmans, L. Goudman, M. Meeus, L. Vanderweeën, K. Ickmans, D. Clauw – Text : visual // Expert Opinion on Therapeutic Targets. – 2017. – Vol. 21, № 8. – P. 817-826.

156. Nirupama, R. Chronic stress and carbohydrate metabolism: persistent changes and slow return to normalcy in male albino rats. / R. Nirupama, M. Devaki, H. N. Yajurvedi – Text : visual // Stress. – 2012. – Vol. 15. – № 3. – P. 262-271.

157. Nobis, A. Peripheral markers of depression. / A. Nobis, D. Zalewski, N. Waszkiewicz – Text : visual // Journal of clinical medicine. – 2020. – Vol. 9, № 12. –

P. 1-54.

158. Noursadeghi, E. Modulatory role of intra-accumbal dopamine receptors in the restraint stress-induced antinociceptive responses. / E. Noursadeghi, A. Haghparast – Text : visual // Brain Research Bulletin. – 2023. – Vol. 195. – P. 172-179.

159. Ouyang, W. IL-10 Family Cytokines IL-10 and IL-22: from Basic Science to Clinical Translation. / W. Ouyang, A. O'Garra – Text : visual // Immunity. – 2019. – Vol. 50, № 4. – P. 871-891.

160. Pacak, K. Heterogeneous neurochemical responses to different stressors: a test of Selye's doctrine of nonspecificity. / K. Pacak, M. Palkovits, G. Yadid, R. Kvetnansky, I. J. Kopin, D. S. Goldstein – Text : visual // American Journal of Physiology. – 1998. – Vol. 275. – P. R1247-R1255.

161. Pacak, K. Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. / K. Pacak, M. Palkovits – Text : visual // Endocrine Reviews. – 2001. – Vol. 22, № 4. – P. 502-548.

162. Padilla, N. D. C-reactive protein and natural IgM antibodies are activators of complement in a rat model of intestinal ischemia and reperfusion. / N. D. Padilla, A. K. van Vliet, I. G. Schoots, M. V. Seron, M. A. Maas, E. E. P. Peltenburg, A. de Vries, H. W. M. Niessen, C. E. Hack, T. M. van Gulik – Text : visual // Surgery. – 2007. – Vol. 142, № 5. – P. 722-733.

163. Pagliusi, Jr. M. The role of the rostral ventromedial medulla in stress responses. / Jr. M. Pagliusi, F. V. Gomes – Text : visual // Brain Sciences. – 2023. – Vol. 13, № 5. – P. 1-10.

164. Pan, D. IL-4 expressing cells are recruited to nerve after injury and promote regeneration. / D. Pan, L. Schellhardt, J. A. Acevedo-Cintron, D. Hunter, Snyder– A. K. Warwick, S. E. Mackinnon, M. D. Wood – Text : visual // Experimental Neurology. – 2022. – Vol. 347. – P. 1-27.

165. Pereira, V. H. Glucose intolerance after chronic stress is related with downregulated PPAR- γ in adipose tissue. / V. H. Pereira, F. Marques, V. Lages, F. G. Pereira, A. Patchev, O. F. Almeida, J. Almeida-Palha, N. Sousa, J. J. Cerqueira – Text :

- visual // Cardiovascular Diabetology. – 2016. – Vol. 15, № 1. – P. 1-11.
166. Pertsov, S. S. Dynamics of metabolic parameters in rats during repeated exposure to modulated low-intensity uhf radiation. / S. S. Pertsov, A. Yu. Abramova, N. Y. Trifonova, B. V. Zhuravlev, B. V. Gurkovskii, A. B. Simakov – Text : visual // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2018. – Vol. 165, № 4. – P. 419-423.
167. Pertsov, S. S. Metabolic parameters in rats at various stages of the post-stress period under conditions of antigenic exposure by administration of lipopolysaccharide. S. S. Pertsov, I. V. Alekseeva, A. Yu. Abramova, E. V. Nikenina, A. Yu. Kozlov, E. V. Koplík, A. S. Martyusheva – Text : visual // Russian Journal of Physiology. – 2021. – Vol. 107, № 3. – P. 321-331.
168. Petersen, M. C. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. / M. C. Petersen, G. I. Shulman – Text : visual // Physiological Reviews. – 2018. – Vol. 98, № 4. – P. 2133-2223.
169. Phielér, J. The role of the complement system in metabolic organs and metabolic diseases. / J. Phielér, R. Garcia-Martin, J.D. Lambris, T. Chavakis – Text : visual // Seminars in Immunology. – 2013. – Vol. 25, № 1. – P. 47-53.
170. Pinto-Ribeiro, F. Chronic unpredictable stress inhibits nociception in male rats. / F. Pinto-Ribeiro, A. Almeida, J. M. Pego, J. Cerqueira, N. Sousa – Text : visual // Neuroscience Letters. – 2004. – Vol. 359, № 1-2. – P. 73-76.
171. Pondeljak, N. Stress-induced Interaction of Skin Immune Cells, Hormones, and Neurotransmitters. / N. Pondeljak, L. Lugovic-Mihic – Text : visual // Clinical Therapeutics. – 2020. – Vol. 42, № 5. – P. 757-770.
172. Propson, N. E. Endothelial C3a Receptor Mediates Vascular Inflammation and Blood-Brain Barrier Permeability During Aging. / N. E. Propson, E. R. Roy, A. Litvinchuk, J. Kohl, H. Zheng – Text : visual // Journal of Clinical Investigation. – 2021. – Vol. 131, № 1. – P. 1-17.
173. Rabasa, C. Impact of stress on metabolism and energy balance. / C. Rabasa, S. L. Dickson – Text : visual // Current Opinion in Behavioral Sciences. – 2016. – Vol. 9. – P. 71-77.

174. Radahmadi, M. Effects of different timing of stress on corticosterone, BDNF and memory in male rats / M. Radahmadi, H. Alaei, M.R. Sharifi, N. Hosseini – Text : visual // *Physiology & Behavior*. – 2015. – № 139. – P. 459-467.
175. Reddaway, J. Enduring neuroimmunological consequences of developmental experiences: From vulnerability to resilience. / J. Reddaway, N.M. Brydges – Text : visual // *Molecular and Cellular Neuroscience*. – 2020. – Vol. 109. – P. 2-22.
176. Reginia, A. Assessment of Complement Cascade Components in Patients With Bipolar Disorder. / A. Reginia, J. Kucharska–Mazur, M. Jabłoński, M. Budkowska, B. Dołęgowska, L. Sagan, B. Misiak, M. Z. Ratajczak, J. K. Rybakowski, J. Samochowiec – Text : visual // *Frontiers in Psychiatry*. – 2018. – Vol. 9. – P. 1-8.
177. Ren, L. Mitochondrial dynamics: fission and fusion in fate determination of mesenchymal stem cells. / L. Ren, X. Chen, X. Chen, J. Li, B. Cheng, J. Xia – Text : visual // *Frontiers in cell and developmental biology*. – 2020. – Vol. 8. – P. 1-18.
178. Robinson, A. M. Let's Talk about Stress: History of Stress Research. / A. M. Robinson – Text : visual // *Review of General Psychology*. – 2018. – Vol. 22, № 3. – P. 334-342.
179. Roque, S. Interleukin–10: a key cytokine in depression? / S. Roque, M. Correia–Neves, A. R. Mesquita, J. A. Palha, N. Sousa – Text : visual // *Cardiovascular Psychiatry and Neurology*. – 2009. – Vol. 2009. – P. 1-5.
180. Rothschild–Rodriguez, D. The effects of exercise on complement system proteins in humans: a systematic scoping review. / D. Rothschild–Rodriguez, A. J. Causer, F. F. Brown, H. D. Collier–Bain, S. Moore, J. Murray, J. E. Turner, J. P. Campbell – Text : visual // *Exercise Immunology Review*. – 2022. – Vol. 28. – P. 1-35.
181. Sandrini, L. Impact of acute and chronic stress on thrombosis in healthy individuals and cardiovascular disease patients. / L. Sandrini, A. Ieraci, P. Amadio, M. Zara, S. S. Barbieri – Text : visual // *International journal of molecular sciences*. – 2020. – Vol. 21, № 21. – P. 1-26.
182. Sanson, A. Anti–Stress Properties of Atypical Antipsychotics. / A. Sanson, M. A. Riva – Text : visual // *Pharmaceuticals (Basel)*. – 2020. – Vol. 13. – № 10. – P. 3–22.

183. Santizo, F. Lectin activity of the coagulation factor VIII/von Willebrand complex. / F. Santizo, E. Zenteno, S. Pina-Canseco, P. Hernandez-Cruz, M. M. Cruz, L. P. C. Mayoral, E. Perez-Campos, R. Martínez-Cruz – Text : visual // The Tohoku journal of experimental medicine. – 2009. – Vol. 217, № 3. – P. 209-215.
184. Schaffer, J. Chronic pain, chronic stress and substance use: overlapping mechanisms and implications. / J. Schaffer, N. Fogelman, D. Seo, R. Sinha – Text : visual // Frontiers in Pain Research. – 2023. – Vol. 4. – P. 1-12.
185. Schraufstatter, I. U. Complement C3a and C5a Induce Different Signal Transduction Cascades in Endothelial Cells. / I. U. Schraufstatter, K. Trieu, L. Sikora, P. Sriramarao, R. DiScipio – Text : visual // Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950). – 2002. – Vol. 169. – P. 2102-2110.
186. Schulkin, J. Allostasis, amygdala, and anticipatory angst. / J. Schulkin, B. S. McEwen, P. W. Gold – Text : visual // Neuroscience & Biobehavioral Reviews. – 1994. – Vol. 18. – P.385-396.
187. Seggie, J. Profiles of hormone stress response: recruitment or pathway specificity. / J. Seggie, G. M. Brown – Text : visual // Brain peptides and hormones. – Raven Press New York. – 1982. – P. 277-285.
188. Seiler, A. The impact of everyday stressors on the immune system and health. / A. Seiler, C. P. Fagundes, L. M. Christian – Text : visual // Stress challenges and immunity in space: From mechanisms to monitoring and preventive strategies. – 2020. – P. 71-92.
189. Selye, H. From dream to discovery. / H. Selye – New York: McGraw-Hill, 1964. – 104 p. – Text : visual.
190. Selye, H. Introduction. In: Stress and the heart / H. Selye, D. Wheatley – New York: Raven press, 1981. – 424 p. – Text : visual.
191. Selye, H. The Stress of Life, 2nd ed. / H. Selye – New York: McGraw-Hill Education, 1978. – 324 p. – Text : visual.
192. Selye, H. The stress of life. / H. Selye – New York: McGraw-Hill Education, 1956. – 324 p. – Text : visual.
193. Selye, H. Stress without Distress. / H. Selye – New York: Hodder and Stoughton,

1974. – 171 p. – Text : visual.

194. Selye, H. Stress without distress. / H. Selye – Text : visual // *Revue médicale de Bruxelles*. – 1976. – Vol. 56. – № 5. – P. 205-210.

195. Selye, H. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation / H. Selye – Text : visual // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. – 1946. – Vol. 6, № 2. – P. 117-230.

196. Sheng, Z. F. Corticotropin–releasing hormone neurons in the central nucleus of amygdala are required for chronic stress–induced hypertension. / Z. F. Sheng, H. Zhang, J. G. Phaup, P. Zheng, X. Kang, Z. Liu, H. M. Chang, E. T. H. Yeh, A. K. Johnson, H. L. Pan, D. P. Li – Text : visual // *Cardiovascular research*. – 2023. – Vol. 119, № 8. – P. 1751-1762.

197. Shi, M. Increased thermal and mechanical nociceptive thresholds in rats with depressive–like behaviors. / M. Shi, W. J. Qi, G. Gao, J. Y. Wang, F. Luo – Text : visual // *Brain Research*. – 2010. – Vol. 1353. – P. 225-233.

198. Shimo, Y. Social stress induces autoimmune responses against the brain. / Y. Shimo, F. Cathomas, H. Y. Lin, K. L. Chan, L. F. Parise, L. Li, C. Ferrer–Pérez, S. Muhareb, S. Costi, J. W. Murrough, S. J. Russo – Text : visual // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2023. – Vol. 120, № 49. – P. 1-10.

199. Shivshankar, P. Circadian Clock and Complement Immune System–Complementary Control of Physiology and Pathology? / P. Shivshankar, B. Fekry, K. Eckel–Mahan, R. A. Wetsel – Text : visual // *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. – 2020. – Vol. 10. – P. 1-14.

200. Smaniotto, T. A. Intranasal administration of interleukin–4 ameliorates depression–like behavior and biochemical alterations in mouse submitted to the chronic unpredictable mild stress: modulation of neuroinflammation and oxidative stress. / T. A. Smaniotto, A. M. Casaril, D. de Andrade Lourenço, F. S. Sousa, F. K. Seixas, T. Collares, R. Woloski, L. Da Silva Pinto, D. Alves, L. Savegnago – Text : visual // *Psychopharmacology (Berlin)*. – 2023. – Vol. 240, № 4. – P. 935-950.

201. Smirnova, A. V. Features of anesthesia in rats at abdominal operations. / A. V.

- Smirnova, L. D. Lagutina, I. E. Trubitsyna, O. S. Vasnev, O. B. Yanova – Text : visual // Experimental and Clinical Gastroenterology. – 2012. – Vol. 5. – P. 62-65.
202. Strekalova, T. Chronic mild stress paradigm as a rat model of depression: facts, artifacts, and future perspectives. / T. Strekalova, Y. Liu, D. Kiselev, S. Khairuddin, J. L. Y. Chiu, J. Lam, Y. S. Chan, D. Pavlov, A. Proshin, K. P. Lesch, D. C. Anthony, L. W. Lim – Text : visual // Psychopharmacology (Berlin). – 2022. – Vol. 39, № 3. – P. 663-693.
203. Tamashiro, K. L. Chronic stress, metabolism, and metabolic syndrome. / K. L. Tamashiro, R. R. Sakai, C. A. Shively, I. N. Karatsoreos, L. P. Reagan – Text : visual // Stress. – 2011. – Vol. 14, № 5. – P. 468-474.
204. Tang, S. The complement system: a potential target for the comorbidity of chronic pain and depression. / S. Tang, W. Hu, H. Zou, Q. Luo, W. Deng, S. Cao – Text : visual // Korean Journal of Pain. – 2024. – Vol. 37, № 2. – P. 91-106.
205. Teofilovic, A. Impact of insulin and glucocorticoid signalling on hepatic glucose homeostasis in the rat exposed to high-fructose diet and chronic stress. / A. Teofilovic, J. Brkljacic, A. Djordjevic, D. Vojnovic Milutinovic, L. Tappy, G. Matic, N. Velickovic – Text : visual // International journal of food sciences and nutrition. – 2020. – Vol. 71, № 7. – P. 815–825.
206. Tjurenkov, I. N. The influence of immunization on adaptation by chronic stress of animals. / I. N. Tjurenkov, I. S. Filina, B. Ju. Gumilevskij, E. V. Volotova, D. A. Bakulin – Text : visual // Fundamental research. – 2014. – Vol. 7, № 2. – P. 368-371.
207. Tong, Y. Association of Pain with Plasma C5a in Patients with Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders During Remission. / Y. Tong, J. Liu, T. Yang, J. Wang, T. Zhao, Y. Kang, Y. Fan – Text : visual // Neuropsychiatric Disease and Treatment. – 2022. – Vol. 18. – P. 1039-1046.
208. Trollope, A. F. Molecular and Epigenetic Mechanisms Underlying Cognitive and Adaptive Responses to Stress. / A. F. Trollope, K. R. Mifsud, E. A. Saunderson, J. M. H. M. Reul – Text : visual // Epigenomes. – 2017. – Vol. 1, № 3. – P. 17.
209. Turner, A. I. Psychological stress reactivity and future health and disease

- outcomes: A systematic review of prospective evidence. / A. I. Turner, N. Smyth, S. J. Hall, S. J. Torres, M. Hussein, S. U. Jayasinghe, K. Ball, A. J. Clow – Text : visual // *Psychoneuroendocrinology*. – 2020. – Vol. 114. – P. 1-20.
210. Vachon–Presseau, E. Effects of stress on the corticolimbic system: implications for chronic pain. / E. Vachon–Presseau – Text : visual // *Progress in Neuro–Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. – 2018. – Vol. 87. – P. 216-223.
211. Valencia–Florez, K. B. Stress, a Brief Update. / K. B. Valencia–Florez, H. Sánchez–Castillo, P. Vázquez, P. Zarate, D. B. Paz – Text : visual // *International Journal of Psychological Research (Medellin)*. – 2023. – Vol. 16, № 2 – P. 105-121.
212. Van der Kooij, M. A. The impact of chronic stress on energy metabolism. / M. A. Van der Kooij – Text : visual // *Molecular and Cellular Neuroscience*. – 2020. – Vol. 107. – P. 3-44.
213. Vieira, W. F. Neuropathic Pain, Mood, and Stress–Related Disorders: A Literature Review of Comorbidity and Co–Pathogenesis. / W. F. Vieira, D. R. A. Coelho, S. T. Litwiler, K. M. McEachern, J. A. Clancy, L. Morales–Quezada, P. Cassano – Text : visual // *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. – 2024. – P. 105673.
214. Vignjevic Petrinovic, S. Interplay between stress and cancer–A focus on inflammation. / S. Vignjevic Petrinovic, M. S. Milosevic, D. Markovic, S. Momcilovic – Text : visual // *Frontiers in Physiology*. – 2023. – Vol. 14. – P. 1-8.
215. Wachholz, S. Interleukin–4 is a participant in the regulation of depressive–like behavior. / S. Wachholz, A. Knorr, L. Mengert, J. Plumper, R. Sommer, G. Juckel, A. Friebe – Text : visual // *Behavioural Brain Research*. – 2017. – Vol. 30, № 326. – P. 165-172.
216. Wang, C. Microglia mediate forgetting via complement–dependent synaptic elimination. / C. Wang, H. Yue, Z. Hu, Y. Shen, J. Ma, J. Li X. D., Wang, L. Wang, B. Sun, P. Shi, L. Wang, Y. Gu – Text : visual // *Science*. – 2020. – Vol. 367, № 6478. – P. 688-694.
217. Westacott, L. J. Complement C3 and C3aR mediate different aspects of emotional behaviours; relevance to risk for psychiatric disorder. / L. J. Westacott, T. Humby, N.

Haan, S. A. Brain, E. L. Bush, M. Toneva, A. I. Baloc, A. L. Moon, J. Reddaway, M. J. Owen, J. Hall, T. R. Hughes, B. P. Morgan, W. P. Gray, L. S. Wilkinson – Text : visual // Brain, Behavior, and Immunity. – 2022. – Vol. 99. – P. 70-82.

218. Willner P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage. / P. Willner – Text : visual // Neurobiology of Stress. – 2016. – Vol. 6. – P. 78-93.

219. Willner, P. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. / P. Willner, A. Towell, D. Sampson, S. Sophokleous, R. Muscat – Text : visual // Psychopharmacology (Berlin). – 1987. – Vol. 93, № 3. – P. 358-364.

220. Wolowczuk, I. Feeding our immune system: impact on metabolism. / I. Wolowczuk, C. Verwaerde, O. Viltart, A. Delanoye, M. Delacre, B. Pot, C. Grangette – Text : visual // Clinical and Developmental Immunology. – 2008. – Vol. 2008. – P. 1-19.

221. Woo, H. Chronic restraint stress induces hippocampal memory deficits by impairing insulin signaling / H. Woo, C. J. Hong, S. Jung, S. Choe, S. W. Yu – Text : visual // Molecular brain. – 2018. – Vol. 11. – P. 1-13.

222. Wu, H. Y. Spinal interleukin–10 produces antinociception in neuropathy through microglial β –endorphin expression, separated from antineuroinflammation. / H. Y. Wu, X. F. Mao, X. Q. Tang, U. Ali, E. Apryani, H. Liu, X. Y. Li, Y. X. Wang – Text : visual // Brain, Behavior, and Immunity. – 2018. – Vol. 73. – P. 504-519.

223. Wu, Z. Stress, epigenetics, and aging: Unraveling the intricate crosstalk. / Z. Wu, J. Qu, W. Zhang, G. H. Liu – Text : visual // Molecular Cell. – 2024. – Vol. 84, № 1. – P. 34-54.

224. Xu, J. Mechanism of interleukin–1 beta induced expression of complement component 3 in human chondrocytes and its pathogenesis in osteoarthritis. / J. Xu, F. Xu, P. Woster – Text : visual // Osteoarthritis and Cartilage. – 2023. – Vol. 31, № 1. – P. 302.

225. Xu, S. Chronic Stress in a Rat Model of Depression Disturbs the Glutamine–Glutamate–GABA Cycle in the Striatum, Hippocampus, and Cerebellum. / S. Xu, Y. Liu, J. Pu, S. Gui, X. Zhong, L. Tian, X. Song, X. Qi, H. Wang, P. Xie – Text : visual //

Neuropsychiatric Disease and Treatment. – 2020. – Vol. 16. – P. 557-570.

226. Yousufzai, M. I. U. A. Ghrelin is a persistent biomarker for chronic stress exposure in adolescent rats and humans. / M. I. U. A. Yousufzai, E. S. Harmatz, M. Shah, M. O. Malik, K. A. Goosens – Text : visual // Translational psychiatry. – 2018. – Vol. 8, № 1. – P. 1-11.

227. Yu, Z. Decreased Density of Perineuronal Net in Prelimbic Cortex Is Linked to Depressive-Like Behavior in Young-Aged Rats. / Z. Yu, N. Chen, D. Hu, W. Chen, Y. Yuan, S. Meng, W. Zhang, L. Lu, Y. Han, J. Shi – Text : visual // Frontiers in Molecular Neuroscience. – 2020. – Vol. 28, № 13. – P. 1-12.

228. Zefferino, R. Molecular links between endocrine, nervous and immune system during chronic stress. / R. Zefferino, S. di Gioia, M. Conese – Text : visual // Brain and behavior. – 2021. – Vol. 11, № 2. – P. 1-15.

229. Zhang, C. Complement C3a signaling facilitates skeletal muscle regeneration by regulating monocyte function and trafficking. / C. Zhang, C. Wang, Y. Li, T. Miwa, C. Liu, W. Cui, W. C. Song, J. Du – Text : visual // Nature Communications. – 2017. – Vol. 8, № 1. – P. 1-12.

230. Zhang, C. The effect of chronic stress on behaviors, inflammation and lymphocyte subtypes in male and female rats. / C. Zhang, B. Liu, J. Pawluski, H. W. M. Steinbusch, U. Kirthana Kunikullaya, C. Song – Text : visual // Behavioural Brain Research. – 2023. – Vol. 15, № 439. – P. 2-33.

231. Zhang, H. Understanding the connection between gut homeostasis and psychological stress. / H. Zhang, Z. Wang, G. Wang, X. Song, Y. Qian, Z. Liao, L. Sui, L. Ai, Y. Xia – Text : visual // The Journal of Nutrition. – 2023. – Vol. 153, № 4. – P. 924-939.

232. Zhang, K. Cang-Ai Volatile Oil Ameliorates Depressive Behavior Induced by Chronic Stress Through IDO-Mediated Tryptophan Degradation Pathway. / K. Zhang, N. Lei, M. Li, J. Li, C. Li, Y. Shen, P. Guo, L. Xiong, Y. Xie – Text : visual // Frontiers in Psychiatry. – 2021. – Vol. 12. – P. 1-12.

233. Zhang, Q. Molecular insights into the transgenerational inheritance of stress

memory. / Q. Zhang, Y. Tian – Text : visual // Journal of Genetics and Genomics. – 2022. – Vol. 49, № 2. – P. 89-95.

234. Zhao, J. Depression comorbid with hyperalgesia: Different roles of neuroinflammation induced by chronic stress and hypercortisolism / J. Zhao, X. Gao, A. Wang, Y. Wang, Y. Du, L. Li, M. Li, C. Li, X. Jin, M. Zhao – Text : visual // Journal of Affective Disorders. – 2019. – Vol. 256. – P. 117-124.