

Экспериментальная и профилактическая медицина

УДК 577.158:616.831-005

Региональные сдвиги эндогенной продукции оксида азота в цитозоле и митохондриях тканей головного мозга крыс при депрессивноподобном состоянии, индуцированном хроническим стрессом**Н.С. Назарян***Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН РА
0014, Ереван, ул. П.Севака, 5/1*

Ключевые слова: депрессия, митохондрии, мозг, синтаза оксида азота, хронический стресс, цитозоль

На сегодняшний день накоплены многочисленные данные, свидетельствующие о том, что дисфункция митохондрий способствует развитию стойких нарушений когнитивно-мнестических функций в ЦНС и участвует в патогенетических механизмах психических расстройств [7, 31]. Ферменты митохондриальной дыхательной цепи входят в спектр биомитохондриальной оксида азота (NO) и его метаболитов [9, 19]. В центральной и периферической нервной системе NO регулирует секрецию возбуждающих аминокислот, глутамата и аспартата, а также нейротрансмиттеров, дофамина, норадреналина, серотонина, ацетилхолина, ГАМК [3, 21, 32]. В тканях млекопитающих и человека NO синтезируется из L-аргинина ферментом NO синтазой (NOS), ее изоформами, к которым относятся кальций-кальмодулинзависимые “конститутивные” NOS (cNOS), нейрональная и эндотелиальная (nNOS и eNOS соответственно), и Ca²⁺-кальмодулиннезависимая “индуцибельная” (iNOS) [11]. Недавно показано наличие конститутивной формы NOS, локализованной во внутренней мембране митохондрий, которая идентифицирована как nNOS и максимально проявляется в митохондриях головного мозга и в его разных регионах, в том числе в коре и гиппокампе, участвует в обратимом ингибировании цитохром оксидазы, функционально связана с комплексом I митохондриальной дыхательной цепи, при инактивировании которого оказывает прооксидантное действие [15, 30]. Нарушение сбалансированного синтеза NO наблюдается при шизофрении, аффективных расстройствах, развитии депрессивных состояний [22, 25].

Тем не менее задействованные в патогенезе психических расстройств митохондриальные сдвиги в продукции NO разными изоформами NO синтазы мало изучены, хотя и представляют научно-практический интерес.

Ранее на разработанной нами циркадианной модели хронического стресса (ХС) было продемонстрировано развитие депрессивноподобного состояния крыс, сопровождающееся изменениями в уровне L-аргинина, L-цитруллина и NO в плазме, тромбоцитах и иммунокомпетентных клетках крови, которые указывают на системные превращения в данном метаболическом звене при депрессии [4].

В представленной работе эндогенная продукция NO исследовалась в митохондриях и цитозоле тканей разных отделов головного мозга крыс с использованием вышеупомянутой циркадианной модели ХС.

Материал и методы

В работе использовали реактивы производства “Sigma Chemical Co” (США): аминоксидантин, NEPES, NADPH, FAD, FMN, (6R)-5,6,7,8-тетрагидробиоптерин, L-аргинин·HCl, сульфаниловая кислота, дитиотреитол, ЭДТА, декстран (“Serva”, Германия).

Опыты проводили с соблюдением принципов гуманности, изложенных в Директивах Европейского Сообщества (86/609/ЕС) и одобренных комитетом по биомедицинской этике при Институте биохимии им. Г.Х. Бунятына.

Эксперименты проводили на 2-месячных нелинейных белых крысах-самцах массой 100-140 г, которые содержались в виварии в естественных условиях освещения и свободном доступе воды и пищи. Животные были разделены на группы: контрольная – здоровые крысы; крысы с депрессивноподобным поведением, которых декапитировали сразу после 14-дневного хронического стресса и 4 дня спустя.

Хронический стресс и поведенческая активность. ХС осуществляли с учетом циркадианных ритмов по собственной методике [4]. Животных ежедневно в часы, определенные в предварительных экспериментах по фазам захваченных ритмов ряда показателей (частота пульса, температура тела, уровень кортикостерона (ритм надпочечников) в плазме и т. д.), подвергали воздействию одного или двух стрессирующих факторов из шести (принудительное плавание, ограниченный и голодный стресс, эфирные пары, лишение пищи и ортостатический шок), которые для предотвращения предсказуемости повторялись через каждые два дня и с разной длительностью. Ориентировочно-исследовательскую активность и эмоциональное состояние животных оценивали на основании данных тестирования в “открытом поле” и приподнятом крестообразном лабиринте [2, 13].

Выделение структур мозга и внутриклеточных компартментов. Животных декапитировали и на льду из головного мозга извлекали фронтальный кортекс, гиппокамп, полосатое тело (стриатум) и гипоталамус. Структуры мозга гомогенизировали в 10 объемах 20 мМ HEPES буфера, рН 7,4, содержащем 0,25М сахарозу, и выделяли цитозольную фракцию и несинаптическую митохондриальную фракцию, обогащенную нейронами и глией, по методу [15].

Определение активности изоформ NO синтазы. Активность NOS определяли по аккумуляции активных форм азота (АФА) после долговременной инкубации (24 ч, 37°C) гомогенатов тканей мозга в 20 мМ HEPES буфере, рН 7,4, содержащем 2мМ дитиотреитол, 3 мМ $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ в присутствии 5,25 мМ L-аргинина и кофакторов NOS: 0,126 мМ NADPH, 20,07 мкМ (6R)-5,6,7,8-тетрагидрибиоптерина, 6,08 мкМ FAD, 5,53 мкМ FMN. Общая активность NOS определялась при инкубации проб в присутствии 1,73 мМ $CaCl_2$, активность индуцибельной изоформы (iNOS) – в присутствии 5,14 мМ EDTA; активность конститутивных изоформ (cNOS) вычислялась по разности между общей активностью NOS и активностью iNOS. В параллельных контрольных экспериментах, подтверждающих функционирование метаболического пути L-аргинин NO, пробы инкубировали в присутствии 5мМ N^G -мометил-L-аргинина, конкурентного неселективного природного ингибитора всех исследуемых изоформ NOS. Активность NO синтазы выражали в нмоль (NO_2^-) \cdot мг⁻¹ белка \cdot 24 ч⁻¹.

Определение активных форм азота. В супернатантах депротеинизированных проб (осаждение белков осуществляли 0,5 N NaOH и 10% $ZnSO_4$) определяли содержание АФА, то есть NO и его стабильных интермедиатов, которые образуются в реакционной смеси при взаимодействии синтезирующегося NO с кислородом воздуха (окислы азота (NO_2^- , NO_3^- , N_2O_4 , N_2O_3), а также нитрозотиолы и нитрозамины), неспецифической реакцией диазотирования с использованием реактива Грисса-Илосвая спектрофотометрически при длине волны 546 нм [33, 35].

Определение L-цитруллина. Содержание L-цитруллина определяли в супернатантах депротеинизированных проб (осаждение белков осуществляли 10% трихлоруксусной кислотой). Пробы в соотношении 1:10 смешивали с рабочим раствором (смесь растворов: 9,6% H_2SO_4 и реактива (5мМ диацетилмоноксим, 0,9 мМ тиосемикарбазид и 0,025 мМ $FeCl_3$) в пропорции 1:1), нагревали 10 мин на кипящей водяной бане и по охлаждении определяли концентрацию L-цитруллина спектрофотометрически при длине волны 490 нм.

Концентрация белка определялась по методу [28].

Анализ данных. Достоверность различий при множественных сравнениях оценивали с использованием параметрического однофакторного дисперсионного анализа (one-way Anova) с последующим постдиспер-

сионным анализом Холм-Сидака с помощью пакета программ SigmaStat 3.5 for Windows.

Результаты и обсуждение

Долговременное воздействие стрессующих факторов может способствовать развитию депрессии у человека, а у животных вызывает поведенческие сдвиги, сходные с клинической депрессией, поэтому хронический непредсказуемый мягкий стресс широко используется в животных моделях депрессии [12]. Именно ХС, а не острый стресс вызывает значительные нейрохимические морфологические и функциональные изменения в эмоциогенных структурах мозга, опосредующих стрессорный ответ, гиппокампе, гипоталамусе, префронтальном кортексе (ПФК), а также стриатуме, с характерным развитием симптоматики депрессии и тревожных расстройств [27]. В этих отделах мозга нами исследовался метаболический путь L-аргинин NO при развитии депрессивноподобного состояния крыс, в собственной модели ХС, разработанной на основе воздействия ряда стрессующих факторов с учетом циркадианных ритмов [4]. При этом были сформированы исходные группы животных со “средним” типом поведения с соответствующим содержанием моноаминов и их метаболитов в исследуемых структурах мозга крыс [8], т.е. со сходными типологическими характеристиками ориентировочно-исследовательской активности и эмоционального состояния, определенных в предварительном тестировании в “открытом поле” и приподнятом крестообразном лабиринте.

Сразу по истечении 14 дней ХС, на стадии выраженной депрессии поведения и спустя 4 дня при относительном снижении депрессивноподобного поведения крыс [4], в митохондриях и цитозоле регионов мозга крыс оценивали нитрергический ответ в условиях *in vitro* на основе определения активности изоформ NO синтазы и *in vivo* по содержанию продуктов NO синтазной реакции, NO и его стабильных метаболитов (АФА) и цитруллина, который является непрямым маркером локальной продукции NO [6]. Следует отметить, что уровень NO и его стабильных метаболитов зависит от баланса таких противоположно направленных процессов, как синтез NO и его метаболизирование и удаление. Активное взаимодействие NO с широким спектром молекулярных мишеней (металлы, ферроформы гемопротейдов, особенно гемоглобин, активные формы кислорода, низкомолекулярные тиолы, сульфгидрильные группы белков) имеет важное значение в механизмах депонирования, транспорта, распределения и стабилизации его уровня в тканях [23]. Отклонения от нормы свидетельствуют не только об интенсификации или подавлении нитрергического ответа, но и сопряженных метаболических превращений.

Непосредственно после 14-дневного ХС во всех исследуемых регионах мозга наблюдаются разнонаправленные изменения активности функционально различающихся изоформ NOS (рис. 1-4). Падение активности

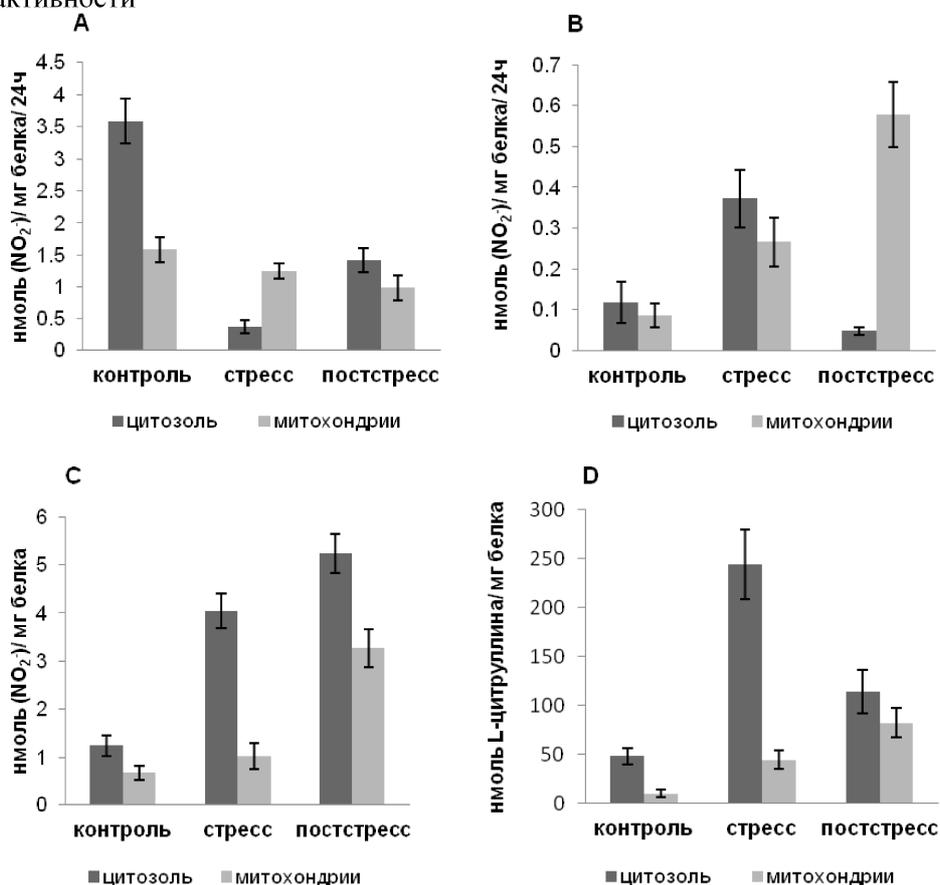


Рис. 1. Влияние хронического циркадианного стресса на активность конститутивных изоформ NOS (А) и индуцибельной NOS (В) и содержание АФА (С) и L-цитруллина (D) в цитозоле и митохондриях префронтального кортекса крыс. Результаты представлены в виде $M \pm SEM$, достоверность различий при сравнении всех групп: А – $F=49.1, p < 0.001; F=2.9, p=0.063$; В – $F= 11.7, p < 0.001; F= 17.1, p < 0.001$; С – $F=37.9, p < 0.001; F=24, p < 0.001$; D – $F=16.4, p < 0.001; F=11.9, p < 0.001$ относительно цитозоля и митохондрий соответственно

конститутивных NOS в 9.9, 4.7, 3.7 и 2 раза наблюдалось в цитозоле ПФК, гипоталамуса, гиппокампа и стриатума соответственно. Менее выраженные сдвиги были зафиксированы в митохондриях гипоталамуса и стриатума, в которых cNOS-зависимая продукция NO снижается в 2.9 и 1.7 раза соответственно, небольшие статистически недостоверные колебания активности cNOS определялись в митохондриях ПФК и гиппокампа. Интересно, что при этом депрессивноподобное состояние, индуцированное ХС,

сопровождается значительным смещением соотношения активностей cNOS во фракциях цитозоль/митохондрии в сторону митохондрий, по сравнению с интактными крысами, у которых в этих отделах мозга цитозольная cNOS превалирует над митохондриальной. Снижение активности

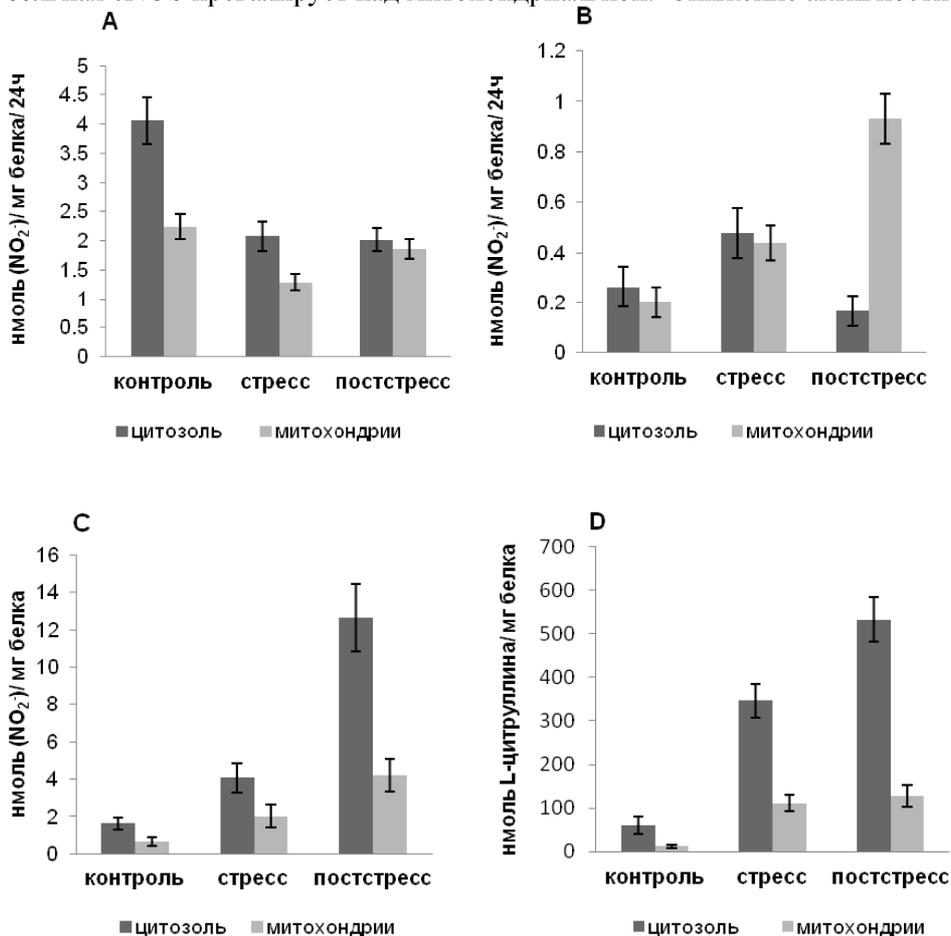


Рис. 2. Влияние хронического циркадианного стресса на активность конститутивных изоформ NOS (А) и индуцибельной NOS (В) и содержание АФА (С) и L-цитруллина (D) в цитозоле и митохондриях стриатума крыс. Результаты представлены в виде $M \pm SEM$, достоверность различий при сравнении всех групп: А – $F=15.4, p<0.001$; $F=7.2, p=0.002$; В – $F=3.8, p=0.029$; $F=22.4, p<0.001$; С – $F=25.2, p<0.001$; $F=8.4, p<0.001$; D – $F=38, p<0.001$; $F=12, p<0.001$ относительно цитозоля и митохондрий соответственно

конститутивных изоформ NOS и особенно nNOS, которая доминирует в мозге, может приводить к когнитивному дефициту, как это наблюдается у нокаутированных по nNOS мышей [38]. Кроме того, это является признаком снижения активности дофаминергической системы, стимулирующей nNOS в тканях мозга [5, 16]. В то же время ХС вызывает резкое

активирование iNOS в цитозольной фракции гиппокампа и гипоталамуса и несколько меньше в ПФК и стриатуме, в 32, 12, 3 и 2 раза соответственно. Это приобретает особое значение, поскольку iNOS единственная изофор-

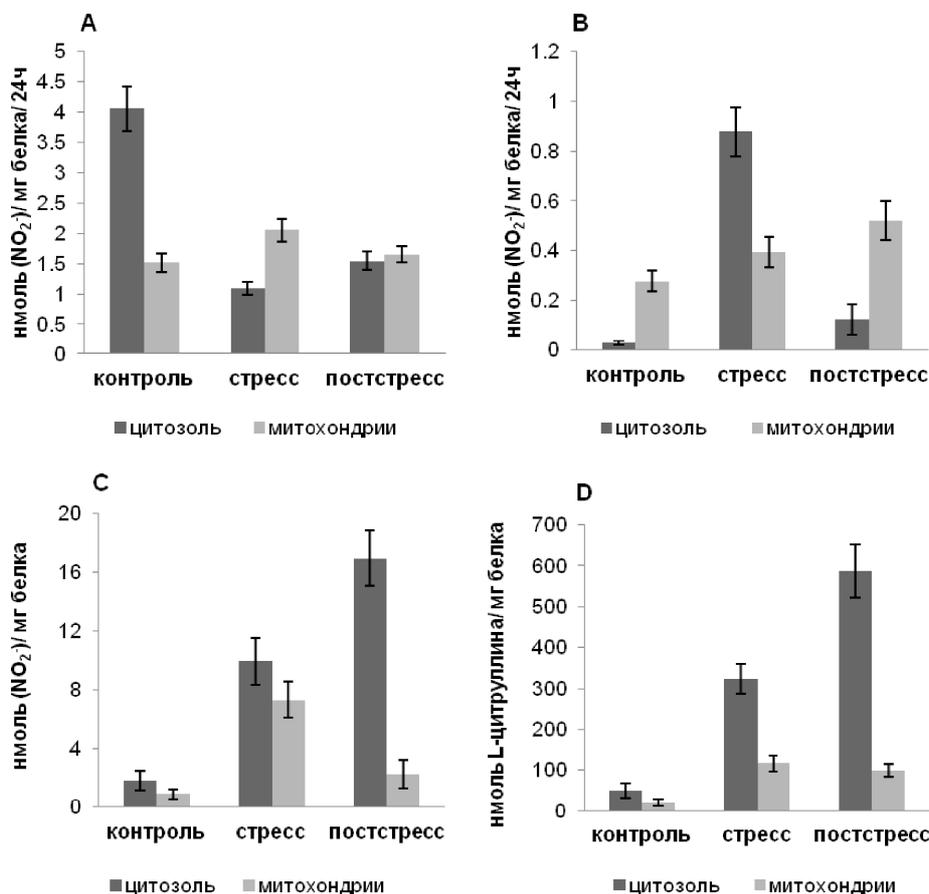


Рис. 3. Влияние хронического циркадианного стресса на активность конститутивных изоформ NOS (A) и индуцибельной NOS (B) и содержание АФА (C) и L-цитруллина (D) в цитозоле и митохондриях гиппокампа крыс. Результаты представлены в виде $M \pm SEM$, достоверность различий при сравнении всех групп: A – $F=43.8, p<0.001$; $F=3.1, p=0.054$; B – $F=47.4, p<0.001$; $F=7.9, p=0.001$; C – $F=26, p<0.001$; $F=14, p<0.001$; D – $F=36.1, p<0.001$; $F=11.9, p<0.001$ относительно цитозоля и митохондрий соответственно

ма, способная продуцировать NO в течение длительного времени (до 5 дней) и стойко повышать его уровень [36]. В результате NO-индуцированное обратимое ингибирование дыхания митохондрий может снижать их мембранный потенциал и таким образом способствовать выбросу кальция в цитозоль, повышая его содержание в последнем [29]. Эти процессы, с одной стороны, могут стимулировать активность кальцийзависи-

мых изоформ NOS, локализованных в цитозоле, а с другой – подавлять митохондриальную NOS, вследствие снижения содержания свободного кальция в митохондриях. Однако, как показали наши эксперименты,

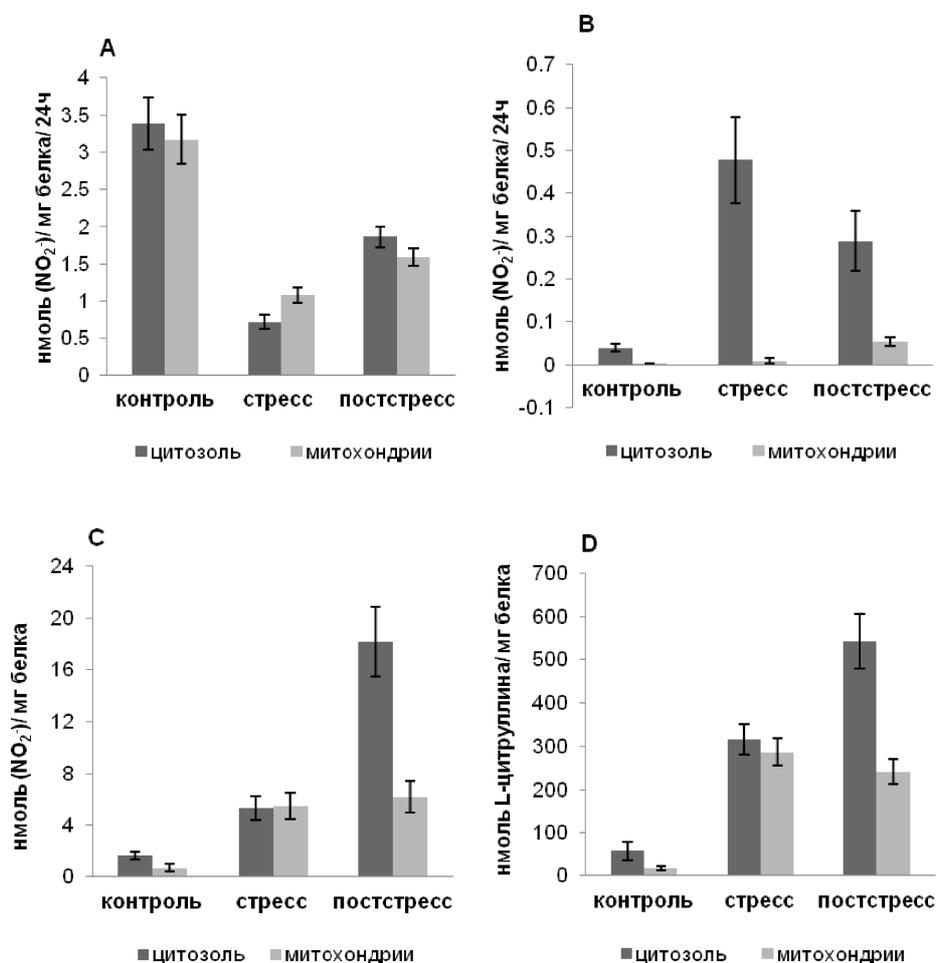


Рис. 4. Влияние хронического циркадианного стресса на активность конститутивных изоформ NOS (A) и индуцибельной NOS (B) и содержание АФА (C) и L-цитруллина (D) в цитозоле и митохондриях гипоталамуса крыс.

Результаты представлены в виде $M \pm SEM$, достоверность различий при сравнении всех групп: A – $F=35.7, p<0.001$; $F=26.7, p<0.001$; B – $F=6.4, p=0.003$; $F=16.7, p<0.001$; C – $F=27.8, p<0.001$; $F=11.1, p<0.001$; D – $F=30.6, p<0.001$; $F=34.2, p<0.001$ относительно цитозоля и митохондрий соответственно

подавляется не только митохондриальная, но и цитозольные cNOS, что, по-видимому, отчасти связано с доминирующим активированием в цитозоле iNOS, которая, повышая уровень NO в исследуемых регионах мозга, способна ингибировать cNOS.

Физиологическое соответствие тест-систем *in vitro* необходимо тщательно анализировать. Протекающие в физиологических условиях процессы синтеза NO и определяемые *in vitro* не могут быть полностью идентичны. Поэтому был осуществлен дополнительный анализ *in vivo* содержания АФА (рис. 1С-4С) и цитруллина (рис. 1D-4D) в цитозольном и митохондриальном компартментах всех исследуемых регионов мозга, который показал, что активирование в них нитрегергического ответа сопровождается одновременным повышением базального уровня АФА и цитруллина, что в основном подтверждает полученные *in vitro* данные.

Следует отметить, что принцип ограничения гиперпродукции NO по механизму отрицательной обратной связи действует для всех известных форм NOS и, по-видимому, лежит в основе их саморегуляции для предупреждения отрицательных последствий повышения уровня NO, при этом NO является неконкурентным ингибитором NO синтазы, особенно ее конститутивных изоформ [11, 34]. NO подавляет активность NOS путем образования железо-нитрозильных комплексов ($\text{Fe}^{2+}\text{-NO}$), но при этом iNOS ингибируется слабо, так как в ней восстановленный комплекс $\text{Fe}^{2+}\text{-NO}$ легко переходит в $\text{Fe}^{3+}\text{-NO}$ – конечный продукт NO синтазной реакции [14], тогда как nNOS остается в прочной $\text{Fe}^{2+}\text{-NO}$ форме и ее активность заметно снижается [10]. И хотя при большой депрессии и биполярных депрессивных состояниях в мозге возрастает число нейронов, экспрессирующих нейрональную NOS [18], ее активность может не проявляться, вследствие ее NO-зависимого ингибирования.

При стрессе имеет место гиперпродукция активных форм кислорода (АФК) и в результате их взаимодействия с NO образуется мощный оксидант пероксинитрит (ПН), запускаются NO/ПН-индуцированные процессы: ингибирование аконитазы и железо-серных центров I-III комплексов дыхательной цепи, подавление синтеза макроэргов, АТФ и креатинфосфата, а также нитрозилирование мембранных тиолов с изменением проницаемости митохондриальных мембран, открытие гигантской митохондриальной поры, т.е развитие митоптоза, нейроаптоза и некроза, при этом дисфункция митохондрий вызывает нарушения обратного захвата медиаторов (катехоламинов, дофамина, серотонина), ионного транспорта, генерации и проведения импульса и пр. [1, 20, 30]. Кроме того, избыток NO и ПН подавляет активность ферментов, участвующих в репликации ДНК, и может непосредственно повреждать ДНК, в результате чего включаются защитные механизмы с активированием поли (АДФ-рибоза) синтетазы, что приводит к истощению пула восстановленных пиридиннуклеотидов и еще больше снижает уровень АТФ, являясь одной из причин развития апоптоза [1, 17]. Наконец NO стимулирует синтез белка p53, который индуцирует экспрессию апоптогенных белков Bax, Fas, p53AIP (apoptosis inducing protein) и др., а также перемещается в мито-

хондрию при апоптозе, что может быть одной из причин выработки АФК и снижения трансмембранного потенциала на внутренней мембране [1].

Полученные нами данные подтверждаются работами других авторов. Так, повышение экспрессии и возрастание активности NOS выявлено в зубчатой фасции и СА3 регионах гиппокампа крыс при стрессиндуцированном хроническом депрессивноподобном состоянии (снижение локомоции и груминга в “открытом поле”, предпочтения сахарозы и одновременное повышение иммобильности в тесте вынужденного плавания по Порсолту) [26]. Развитие депрессивноподобного поведения у грызунов при ХС сопровождается активированием индуцибельной изоформы NOS в гиппокампе, и при ее ингибировании достигается антидепрессивный эффект [37]. На экспериментальной модели «депрессивного» состояния, вызванного принудительным плаванием крыс, продемонстрировано антидепрессивное действие анальгетика трамадола, которое осуществляется посредством ингибирования L-аргинин-NO-cGMP пути [24].

Примечательно, что на четвертый день после прекращения воздействия стрессирующих факторов продолжается заметное возрастание активности iNOS в митохондриях всех исследуемых регионов мозга. Противоположная картина наблюдается в постстрессовый период в цитозоле всех исследуемых структур мозга, где происходит падение активности iNOS, причем в ПФК и стриатуме она ниже контрольных значений. Повышенное содержание АФА, возможно, вносит свою лепту в эти изменения, о чем отмечалось выше.

Таким образом, при ХС-индуцированном развитии депрессивноподобного состояния у крыс нами впервые продемонстрировано регионспецифическое времязависимое стимулирование системы iNOS/NO в митохондриях и подавление cNOS/NO в цитозоле и митохондриях тканей головного мозга. ХС/iNOS-стимулированное устойчивое повышение содержания АФА в этих компартментах нарушает сбалансированный синтез NO изоформами NOS, приводящий к нитрозирующему стрессу, дисфункции митохондрий, которые сопровождаются нарушениями энергетического баланса и нейротрансмиссии, вовлекаясь в патогенетические механизмы депрессии.

Поступила 14.04.11

Ազոտի օքսիդի ներսածին գոյացման ռեգիոնալ շեղումները առնետների գլխուղեղի հյուսվածքների բջջապլազմայում ու միտոքոնդրիումներում խրոնիկական սթրես-ինդուկցված ընկճումանման վիճակի ժամանակ

Ն. Ս. Նազարյան

Համաձայն ժամանակակից պատկերացումների՝ գլխուղեղում ընկճվածության ժամանակ առաջանում են շեղումներ ազոտի օքսիդի (NO) ներսածին գոյացման գործընթացի մեջ:

Ներկայացված աշխատանքում առաջին անգամ պարզաբանվել է վերջերս հայտնաբերված միտոքոնդրիումային ազոտի օքսիդի սինթազի (NOS) ներգրավումը ընկճման մոլեկուլային մեխանիզմներում:

Բացահայտվել է, որ սթրեսային պատասխանը կարգավորող՝ գլխուղեղի կեղևի նախակենտրոնական շրջանի, գոլավոր մարմնի, հիպոկամպի ու հիպոթալամուսի բջջապլազմայում ու միտոքոնդրիումներում խթանվում է ինդուկցվող iNOS-ը ու միաժամանակ արգելակվում են կոնստիտուտիվ cNOS-ի իզոմերը առնետների խրոնիկական սթրես-ինդուկցված ընկճումանման վիճակի ժամանակ:

Ի հակառակ առողջ առնետների, միտոքոնդրիումային cNOS-ի ակտիվությունը ավելի բարձր էր բջջապլազմայինի համեմատ բոլոր հետազոտվող կառուցվածքներում, իսկ iNOS-ը գերիշխում էր կեղևի նախակենտրոնական շրջանի ու գոլավոր մարմնի միտոքոնդրիումային ֆրակցիայում և հիպոկամպի ու հիպոթալամուսի բջջապլազմայում: Վերը նշված պրոցեսները զուգակցվում էին *in vivo* NO-ի և ազոտի այլ ակտիվ միացությունների ներբջջային մակարդակի կայուն գերաճով ու ռեգիոն-սպեցիֆիկ ձևով մասնակցում ընկճվածության ախտաբանական մեխանիզմների մեջ:

Regional changes in endogenous nitric oxide production in cytosol and mitochondria of the rat brain at chronic stress-induced depression-like behavior

N.S. Nazaryan

Depression is associated with the changes in L-arginine-dependent nitric oxide (NO) production in the brain. We have studied for the first time whether recently discovered mitochondrial NO synthase (NOS) is involved in the pathophysiological mechanisms of depression and demonstrated that chronic circadian stress (CCS)-induced depression-like behavior of rats is accompanied by an upregulation of inducible NOS (iNOS) and a simultaneous downregulation of constitutive NOS isoforms (cNOS) in both cytosolic and mitochondrial compartments of prefrontal cortex (PFC), striatum, hippocampus, and hypothalamus, the major brain regions involved in the regulation of anticipatory chronic stress responses. Contrary to native rats, after CCS the NO production by mitochondrial cNOS prevailed upon that of cytosolic cNOS in all the brain regions studied, while iNOS/NO differentially dominated in the

hippocampus, and hypothalamus in their cytosolic fractions and in the mitochondria of PFK and striatum. CCS-induced persistent activation of iNOS, leading to overproduction of NO and other active nitrogen species determined in vivo, appears to be implicated in the pathogenesis of conditions associated with depression in region-specific and time-dependent manner.

Литература

1. Беленичев И.Ф., Черный В.И., Колесник Ю.М., Павлов С.В. Митохондриальная дисфункция, ее регуляторная и деструктивная роль при церебральной патологии. Нейроапоптоз. Неврология и психиатрия, 2009, т. 277, с. 59-60.
2. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М., 1991.
3. Воронцова О.Н., Бондаренко Н.А. Участие оксида азота в механизмах быстрого изменения состояния центральных дофаминовых рецепторов. Нейрохимия, 2003, т. 20, 3, с. 206-211.
4. Назарян Н.С., Мовсесян Н.О., Алчуджян Н.Х., Мовсесян О.А., Геворкян А.Г., Айрапетян Р.Л., Геворкян Г.А. Депрессивно-подобное состояние и сдвиги в содержании аргинина и его метаболитов в тромбоцитах и иммунокомпетентных клетках крови крыс в циркадианной модели хронического стресса. Мед. наука Армении НАН РА, 2011, т. LI, 1, с. 62-74.
5. Савельев С.А. Влияние локальных введений апоморфина на внеклеточный уровень цитруллина в стриатуме: участие D1- и D2-рецепторов дофамина. Физиол. журн. им. И.М. Сеченова, 2005, т. 91, 8, с. 942-948.
6. Савельев С.А. Репкинс Н.С. Саульская Н.Б. Чувствительный метод определения цитруллина для прижизненного мониторинга продукции оксида азота в ЦНС. Физиол. журн. им. И.М. Сеченова, 2005, т. 91, 5, с. 587-591.
7. Сухоруков В.С. Митохондриальная патология и проблемы патогенеза психических нарушений. Ж. Неврол. психиатр., 2008, т. 108, 6, с. 83-90.
8. Чумаков В.Н., Ливанова Л.М., Крылин В.В., Дугин В.Ф., Айрапетянц М.Г., Чазов Е.И. Влияние хронической невротизации на моноаминоэргические системы различных структур мозга крыс с различными типологическими характеристиками. Ж. высш. нервн. деят., 2005, т. 55, 3, с. 410-417
9. Шумаев К.Б., Свириева И.В., Губкина С.А., Кривова Т.С., Топунов А.Ф., Ванин А.Ф., Рууге Э.К. Образование динитрозильных комплексов железа в митохондриях сердца. Биофизика, 2010, т. 55, 3, с. 460-466.
10. Abu-Soud H.M., Wang J., Rousseeau D.L., Fukuto J.M., Ignarro L.J., Stuehr D.J. Neuronal nitric oxide synthase self-inactivates by forming a ferrous-nitrosyl complexes during aerobic catalysis. J. Biol. Chem., 1995, v. 270, p. 22997-23006.
11. Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. Biochem. J., 2001, v. 357, p. 593-615.
12. Anisman H., Matheson K. Stress, depression and anhedonia: caveats concerning animal models. Neurosci. Behav. Rev., 2005, v. 29, p. 547-569.
13. Augustsson H., Meyerson B. Exploration and risk assessment: a comparative study of male house mice (*Mus musculus*) and two laboratory strains. Physiol. Behav., 2004, v. 81, 4, p. 685-698.
14. Boggs S., Huang L., Stuehr D.J. Formation and reactions of the heme-dioxygenase intermediate in the first and second steps of nitric oxide synthesis as studied by stopped-flow spectroscopy under single-turnover conditions. Biochemistry, 2000, v. 39, p. 2332-2339.
15. Bolaños J.P., Heales S.J. R. Persistent mitochondrial damage by nitric oxide and its derivatives: neuropathological implications. Front Neuroenergetics, 2010, v. 2, p. 1-9.
16. Bracci E., Centonze D., Bernardi G., Calabresi P. Dopamine excites fast spiking interneurons in the striatum. J. Neurophysiol., 2002, v. 87, p. 2190-2194.

17. *Brune B., von Knethen A., Sandau K.B.* Nitric oxide and its role in apoptosis. *Eur. J. Pharmacol.*, 1998, v. 351, 3, p. 261-272.
18. *De Oliveira R.W., Del Bel E.A., Mamede-Rosa M.L., Padovan C.M., Deakin J.F.* Expression of neuronal nitric oxide synthase mRNA in stress-related brain areas after restraint stress. *Neurosci. Lett.*, 2000, v. 289, p. 123-126.
19. *Guilivi C.* Mitochondria as generators and targets of nitric oxide. *Novaris Found. Symp.*, 2007, v. 287, p. 92-100.
20. *Gualano B., Artioli G. G., Poortmans J. R., Lancha A. H.* Exploring the therapeutic role of creatine supplementation. *Amino Acids*, 2010, v. 38, p. 31-44.
21. *Hanania T., Johnson M.* Regulation of neurotransmitter release by endogenous nitric oxide in striatal slices. *Eur. J. Pharmacol.*, 1998, v. 359, p. 111-117.
22. *Hoekstra R., Fekkes D., Pepplinkhuizen L., Loonen A.J., Tuinier S., Verhoeven W.M.* Nitric oxide and neopterin in bipolar affective disorder. *Neuropsychobiology*, 2006, v. 54, 1, p. 75-81.
23. *Inoue M., Sato E.F., Park A.M.* Cross-talk between NO and oxyradicals, a supersystem that regulates energy metabolism and survival of animals. *Free Radic. Res.*, 2000, v. 33, p. 757-770.
24. *Jesse C.R., Bortolatto C.F., Savegnago L., Rocha J.B., Nogueira C.W.* Involvement of L-arginine-nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway in the antidepressant-like effect of tramadol in the rat forced swimming test. 2008, v. 32, 8, p. 1838-1843.
25. *Lauer M., Johannes S., Fritzen S., Senitz D., Riederer P., Reif A.* Morphological abnormalities in nitric-oxide-synthase-positive striatal interneurons of schizophrenic patients. *Neuropsychobiology*, 2005, v. 52, p. 111-117.
26. *Lian T., An S.C.* Antidepressant effect of microinjection of neuropeptide Y into the hippocampus is mediated by decreased expression of nitric oxide synthase. *Sheng Li Xue Bao*, 2010, v. 62, 3, p. 237-246.
27. *Liston C., Miller M.M., Goldwater D.S., Radley J.J., Rocher A.B., Hof P.R., Morrison J.H., McEwen B.S.* Stress-induced alterations in prefrontal cortical dendritic morphology predict selective impairments in perceptual attentional set-shifting. *J. Neurosci.*, 2006, v. 26, p. 7870-7874.
28. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 1951, v. 193, p. 265-275.
29. *Murphy M.P.* Nitric oxide and cell death. *Biochem. Biophys. Acta.*, 1999, v. 1411, p. 401-414.
30. *Parihar M.S., Parihar A., Villamena F.A., Vaccaro P.S., Ghafourifar P.* Inactivation of mitochondrial respiratory chain complex I leads mitochondrial nitric oxide synthase to become pro-oxidative. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2008, v. 367, 4, p. 761-767.
31. *Rezin G.T., Amboni G., Zugno A.I., Quevedo J., Streck E.L.* Mitochondrial dysfunction and psychiatric disorder. *Neurochem. Res.*, 2009, v. 34, p. 1021-1029.
32. *Sequeira S.M., Malva J.O., Carvalho A.P., Carvalho C.M.* Presynaptic N-methyl-D-aspartate receptor activation inhibits neurotransmitter release through nitric oxide formation in rat hippocampal nerve terminals. *Mol. Brain Res.*, 2001, v. 89, p. 111-118.
33. *Schmidt H.H.H.W., Kelm M.* Determination of nitrite and nitrate by the Griess reaction. In: *Feelisch M., Stamler J.S.*, eds. *Methods in Nitric Oxide Research*. Wiley, Chichester; 1996, p. 491-497.
34. *Southan G.J., Szabo C.* Selective pharmacological inhibition of distinct nitric oxide synthase isoforms. *Biochem. Pharmacol.*, 1996, v. 51, 4, p. 383-394.
35. *Tracey W.R., Linden J., Peach M.J., Johns R.A.* Comparison of spectrophotometric and biological assays for nitric oxide and endothelium-derived relaxing factor: non-specificity of the diazotization reaction for NO and failure to detect EDRF. *J. Farm. Exp. Ther.*, 1989, v. 252, 3, p. 922-928.
36. *Vodovoz Y., Kwon N.S., Pospichil M., Manning J., Paik J., Nathan C.* Inducible nitric oxide synthase. Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J. Immunol.*, 1994, v. 152, p. 4110-4118.
37. *Wang D., An S.-C., Zhang X.* Prevention of chronic stress-induced depression-like behavior by inducible nitric oxide inhibitor. *J. Neurosci. Lett.*, 2008, v. 433, p. 59-64.

38. *Weitzdoerfer R., Hoeger H., Engidawork E., Engelmann M., Singewald N., Lubec G., Lubec B.* Neuronal nitric oxide synthase knock-out mice show impaired cognitive performance. *Nitric Oxide*, 2004, v.10, p. 130–140.