

Экспериментальная и профилактическая медицина

УДК 577.152.353:615.214

**Особенности метаболизма в кортиколимбической
системе и крови при дексамфетамин-индуцированном
биполярном расстройстве.
Альтернативные пути превращения аргинина
(Сообщение 1)**

**О.А. Мовсесян, Н.Х. Алчуджян, Н.О. Мовсесян,
М.Р. Оганнисян, А.М. Акопян, Г.Г. Минасян,
Г.Ф. Хачатрян, Г.А. Геворкян**

*Институт биохимии им. Г.Х. Бунятына НАН РА
0014, Ереван, ул. П.Севака, 5/1*

Ключевые слова: d-амфетамин, L-аргинин, аргиназа, биполярное расстройство, кортиколимбическая система, лейкоциты, митохондрии, синтаза оксида азота, цитоплазма

Согласно новейшим данным, до 50 % всех расстройств настроения относятся к биполярному расстройству (БПР), которое проявляется в виде аффективных состояний – маниакальных, гипоманиакальных, депрессивных, а также множества их смешанных форм [25]. Психофармакология и лечение БПР сопряжены с трудностями из-за клинической и патогенетической неоднородности болезни [10]. Патологические процессы, лежащие в основе БПР, тесно связаны с особенностями протекания внутриклеточного метаболизма в структурах мозга, ответственных за формирование эмоций и поведения. В этом смысле особое место занимает метаболизм L-аргинина, который является прямым прекурсором оксида азота (NO), орнитина, мочевины и агматина и участвует в синтезе глутамата, пролина, креатина, путресцина и полиаминов [42, 45]. NO обладает свойствами нейротрансмиттера, к тому же он регулирует секрецию дофамина, норадреналина, серотонина, ацетилхолина, гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК), глутамата и аспартата, участвуя в синаптической нейротрансмиссии [6, 33]. Разными исследованиями подтверждается использование ингибиторов NO синтазы (NOS) в качестве анксиолитиков и антидепрессантов [44]. Один из важнейших ферментов, катаболизирующих L-аргинин, расщепляя его на орнитин и мочевины, и лимитирующих его содержание в тканях, – это аргиназа, которая представлена двумя изофор-

мами, цитоплазматической (АРГ1) и митохондриальной (АРГ2) [28]. Дифференциальная экспрессия изоформ аргиназы в цитоплазме направляет метаболизм аргинина в сторону синтеза из орнитина пролина или возбуждающей аминокислоты, глутамата с вовлечением орнитинаминотрансферазы, а в митохондриях – в направлении синтеза из орнитина путресцина орнитиндекарбоксилазой и далее полиаминов [13]. Есть работы, свидетельствующие, что полиамины задействованы в механизмах БПР и шизофрении [39].

Целью настоящего исследования является изучение субклеточного метаболизма аргинина при дексамфетамин-индуцированном БПР.

Материал и методы

Опыты осуществляли с соблюдением правил содержания и обращения с животными, изложенных в Директивах Европейского Сообщества и Советом от 22.09. 2010 (2010/63/ЕС) и одобренных комитетом по биомедицинской этике при Институте биохимии им. Г.Х. Бунятына НАН РА. Эксперименты проводили на половозрелых 3-месячных белых крысах-самцах линии Вистар массой 120-150 г, которые содержались в виварии в условиях естественного освещения и свободного доступа воды и пищи. Соответствующие по возрасту и полу животные были разделены на группы (по 12 животных в группе): контрольная, в которую были включены интактные крысы, и три опытные группы, в которых воспроизводили модель БПР и исследовали сразу, через одну и две недели после прекращения введения *d*-амфетамин сульфата (дексамфетамин, AMPH) (Sigma, St. Louis, Mo.).

Моделирование БПР. Животные ежедневно (кроме выходных) получали одноразовую внутрибрюшинную инъекцию AMPH (0.2 мл) в возрастающих нетоксических дозах (2-6 мг/кг массы тела, 18 инъекций) [16, 36].

Поведение животных оценивали в тестах “открытое поле” (ОП) и “приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ). Крысу помещали в ОП и в течение первых 3 мин наблюдения визуально регистрировали локомоторную/двигательную активность (по числу пересеченных секторов) и ориентировочно-исследовательскую активность (по числу стоек), груминг/туалетное поведение (по числу актов очищения) и тревожное состояние (по числу болюсов дефекаций) [2]. Сразу после теста ОП животное помещали на открытую площадку ПКЛ и в течение первых 3 мин регистрировали число заходов в открытые и закрытые рукава и оценок “риска” (число свешиваний с рукавов лабиринта), а также число стоек, актов груминга и дефекаций [9].

Забор биологического материала. После тестирования на поведенческую активность, крыс декапитировали, забирали кровь, полученную

после декапитации, и головной мозг. На льду из мозга извлекали префронтальный кортекс (ПФК), стриатум, гиппокамп и гипоталамус, которые использовали для биохимического исследования.

Выделение цитоплазматической и митохондриальной фракций структур мозга осуществляли методом дифференциального центрифугирования [4, 12]. ПФК, стриатум, гиппокамп и гипоталамус гомогенизировали в гомогенизаторе Поттера (1500 об/мин 3-5 мин) в 10-кратном объеме 20 mM HEPES буфера, содержащем 0.25 M сахарозу, pH 7.4 и центрифугировали при 3000 об/мин 10 мин при 4°C на центрифуге K-24 (Германия) (здесь и далее для выделения клеточных компартментов использовалась вышеуказанная центрифуга). Осадок отбрасывали и из надосадочной жидкости центрифугированием при 15000 об/мин 20 мин при 4°C получали цитоплазматическую фракцию в супернатанте и митохондриальную – в осадке.

Выделение лейкоцитов и плазмы крови. Кровь, полученную при декапитации, стабилизировали антикоагулянтом, 0.109 M 5,5-водным трехзамещенным цитратом натрия и смешивали в соотношении 2:1 (по объему) с 6% декстраном (мол. вес=70 000), приготовленном на 0.9 % NaCl, для седиментации эритроцитов в течение 1 ч при 37 °C (при наклоне под углом 45 градусов). Верхний слой декантировали, центрифугировали (1000 об/мин 5 мин при 4°C) и получали в осадке лейкоциты, а в супернатанте – плазму, обогащенную тромбоцитами, последние осаждали центрифугированием (6000 об/мин 10 мин при 4 °C) и в надосадке получали плазму [7].

Выделение митохондриальной и цитоплазматической фракций лейкоцитов крови осуществляли методом дифференциального центрифугирования [1, 4]. Лейкоциты промывали дважды, разводили в 20 mM HEPES буфере, pH 7.4, содержащем 0.25 M сахарозу и гомогенизировали в гомогенизаторе Поттера (1500 об/мин) в течение 3 мин. Осаждение ядер лейкоцитов проводили центрифугированием клеточной суспензии при 1200 об/мин 10 мин при 4 °C, после чего надосадочную жидкость центрифугировали при 11000 об/мин 20 мин при 4 °C и получали цитоплазматическую фракцию в супернатанте и митохондриальную – в осадке.

Общая активность NOS определялась по аккумуляции стабильных метаболитов NO при долговременной инкубации проб (22 ч, 37 °C) в 20 mM HEPES буфере pH 7.4, содержащем 2 mM дитиотреитол, с добавлением 5.3 mM L-аргинина, 0.2 mM NADPH, 20 мкM (6R)-5,6,7,8-тетрагидробиоптерина, 6 мкM FAD, 5.5 мкM FMN и 1.7 mM CaCl₂ [17]. В параллельных контрольных экспериментах пробы инкубировали в присутствии 5 mM N^G-монометил-L-аргинина, конкурентного неселективного природного ингибитора NOS [5]. Активность NOS выражали в нмоль (NO₂⁻) · мг⁻¹ белка · 22 ч⁻¹.

Определение содержания стабильных метаболитов NO. Пробы, депротеинизированные 0,5 N NaOH и 10% ZnSO₄, центрифугировали при 15000 об/мин 3 мин, в полученных супернатантах реакцией диазотирования с использованием реактива Грисса-Илосвая определяли уровень стабильных метаболитов NO, который измеряли спектрофотометрически при длине волны 546 нм [37]. Содержание стабильных метаболитов NO выражали в нмоль (NO₂⁻) · мг⁻¹ белка.

Активность аргиназы определяли по аргининзависимому образованию орнитина (в течение 1 ч при 37 °C) в реакционной смеси, содержащей 20 mM HEPES буфера pH 7.4; 0.05 M MnCl₂ · 4H₂O и 0.1 M L-аргина [19]. В контрольных экспериментах пробы инкубировали в присутствии 60 mM L-валина, неконкурентного ингибитора аргиназы. Реакцию останавливали 10% трихлоруксусной кислотой и пробы центрифугировали при 15000 об/мин 3 мин при комнатной температуре на микроцентрифуге фирмы Eppendorf (США). Активность аргиназы выражали в мкмоль L-орнитина · мг⁻¹ белка · ч⁻¹.

Определение содержания L-орнитина. Безбелковые супернатанты смешивали с 4.5 % нингидрином, нагревали в водяной бане 30 мин при 90–95°C и после охлаждения содержание L-орнитина измеряли спектрофотометрически при длине волны 505 нм [19]. Концентрацию L-орнитина рассчитывали по калибровочной кривой (0.01 – 1 мкМ).

Содержание белка определяли методом Лоури [23].

Спектральные измерения осуществляли на спектрофотометре Specol 211 (Германия).

Статистика. Достоверность различий оценивали на основе параметрического однофакторного дисперсионного анализа (one-way Anova) и последующим постдисперсионным анализом Холм-Сидака с помощью пакета программ SigmaStat 3.5 for Windows. В качестве критерия достоверности принимали $p < 0.05$.

Результаты и обсуждение

Нами использовалась животная модель АМРН-индуцированного БПР, поскольку введение животным амфетамина эндофенотипически соответствует БПР человека: имитирует поведенческие сдвиги при БПР и индуцируемые при этом изменения в головном мозге [15]. Это подтверждалось и полученными нами данными поведенческих тестов [29]. Использовались постепенно возрастающие дозы АМРН с целью предотвращения нейротоксических эффектов высоких доз психостимулятора и имитации его употребления человеком [36]. Введение животным возрастающих доз АМРН наряду с изменением поведенческих характеристик вызывало изменения цитогистологической картины отделов кортиколимбической системы мозга [3]. Отмена АМРН в течение первой недели вызывала пове-

денческую депрессию и сопровождалась временным уменьшением концентрации моноаминовых нейротрансмиттеров в отделах кортиколимбической системы (данные не указаны), что совпадает с результатами исследований других авторов [32].

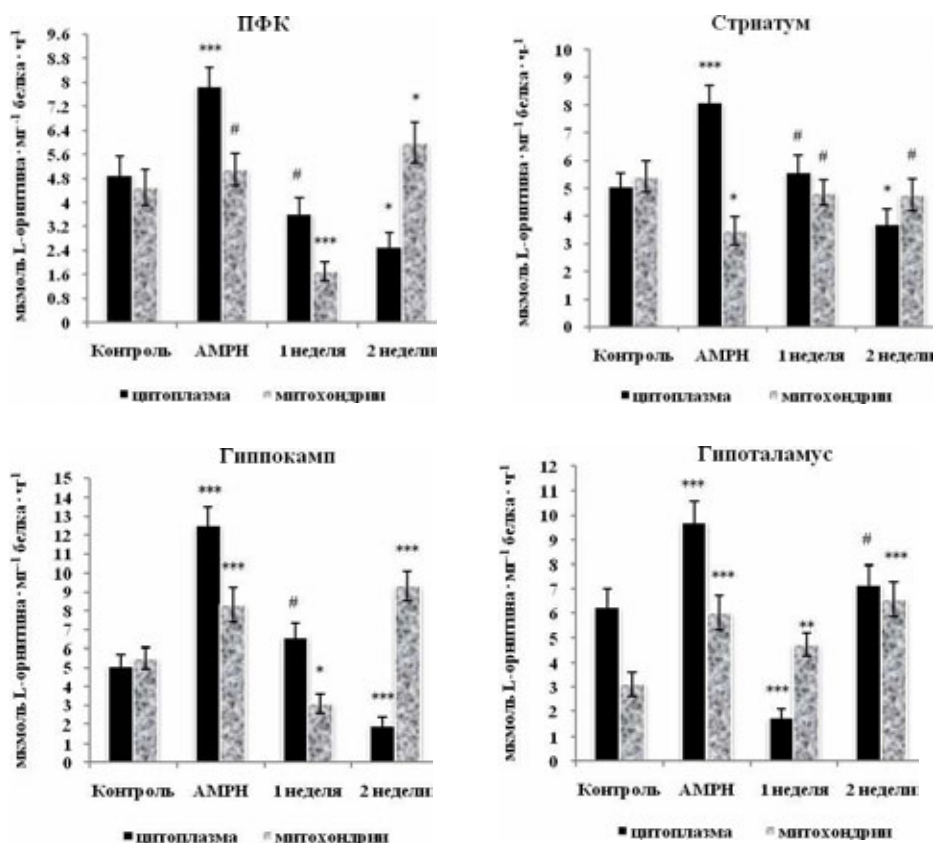


Рис. 1. Вреязависимые сдвиги субклеточной активности аргиназы в отделах кортиколимбической системы при AMPH-индуцированном БПР. Здесь и далее результаты представлены в виде $M \pm SEM$, $n=12$, достоверность (p) различий по сравнению с контролем – обозначениями: # $p>0.05$, * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$

В первой экспериментальной группе животные изучались сразу по окончании приема дексамфетамина. При этом наблюдалось возрастание активности АРГ1 примерно в 1.6 раза в ПФК, стриатуме и гипоталамусе и вдвое в гиппокампе по сравнению с контролем (рис. 1). Активность АРГ2 также повышалась в 2.1 и 1.9 раза в гиппокампе и гипоталамусе, без достоверных изменений в ПФК и со снижением в 1.5 раза в стриатуме. В результате происходит сдвиг в соотношении активностей АРГ1:АРГ2 с превалированием АРГ1, тогда как в норме активность изоферментов

аргиназы была равномерно распределена в ПФК, стриатуме и гиппокампе, за исключением гипоталамуса, в котором активность АРГ1 вдвое выше, чем АРГ2. Изучение отсроченных эффектов дексамфетамина показало, что через неделю после прекращения его приема происходит снижение активности АРГ1 до контрольных значений в ПФК, стриатуме и гиппокампе, тогда как в гипоталамусе она падала в 3.6 раза ниже нормы. Активность АРГ2 также снижалась, в результате чего АМРН-индуцированное доминирование АРГ1 сохранялось в ПФК и гиппокампе, в то время как в стриатуме активность АРГ2 и АРГ1, а также их баланс нормализовались. В гипоталамусе несмотря на уменьшение активности АРГ2, она была выше нормы и в 2.8 раза превышала активность АРГ1. Через 2 недели постамфетаминowego периода в гипоталамусе эти различия нивелируются, не проявляются они и в стриатуме, тогда как в ПФК и гиппокампе активность АРГ2 возрастала выше нормы и превышала таковую АРГ1 в 2.4 и 4.8 раза соответственно.

Таким образом, под влиянием дексамфетамина в регионах кортико-лимбической системы происходит переориентирование интрацеллюлярных путей катаболизма аргинина в сторону преобладания активности АРГ1 в цитоплазме, которое метаболически нацелено на синтез глутамата или пролина. Известно, что глутамат вовлечен в механизмы привыкания к психостимуляторам амфетаминowego ряда [20]. Недавно выяснилось, что глутамат участвует в нейротрансдукции, обеспечивающей амфетамин-индуцированные долговременные нейрональные изменения и амфетамин-ассоциированную память [14]. В то же время отсроченные эффекты дексамфетамина сопровождались времязависимым доминированием АРГ2 в исследуемых участках мозга, при этом в митохондриях будет осуществляться преимущественный синтез путресцина, из которого образуются полиамины, вовлеченные в патофизиологию БПР [13, 39]. Сам путресцин подавляет перекисное окисление липидов и, будучи предшественником ГАМК, оказывает антидепрессантные эффекты [46]. Отметим, что аргиназа лимитирует содержание аргинина, а введение последнего оказывает нейропротекторное действие при церебральном ишемическом инсульте, препятствуя развитию отека мозга, который наиболее выражен в кортексе и стриатуме, и подавляет *in vivo* глутамат-индуцированную нейрональную активность в вентро-медиальном гипоталамусе [22].

Взаимодействие между нервной и иммунной системой является физиологическим базисом для психосоматической медицины. Нервная система участвует в регуляции и контроле иммунных функций, а продуцируемые при иммунном ответе цитокины, пептиды и другие факторы в свою очередь являются важнейшими сигналами для нервной системы [40]. В связи с этим влияние дексамфетамина на пути метаболизма аргинина было изучено в лейкоцитах крови (рис. 2). В лейкоцитах интактных крыс активность АРГ1 была в 1.4 раза выше, чем АРГ2, что указывает на

специфику метаболизирования аргинина в них. Обработка дексамфетамином вызывала в лейкоцитах стимулирование изоформ аргиназы, активность которых возрастала примерно в равной степени в 1.6 раза по сравнению с контролем, а в период отмены препарата – смещение баланса активностей в сторону АРГ2 и, возможно, соответствующих биохимических пертурбаций (см. выше). Особый интерес представляет то, что сдвиги активности изоформ аргиназы в лейкоцитах крови были сходные с детектируемыми в отделах головного мозга. Вероятно, это обусловлено системными механизмами, которые включаются в ответ на долговременную обработку дексамфетамином.

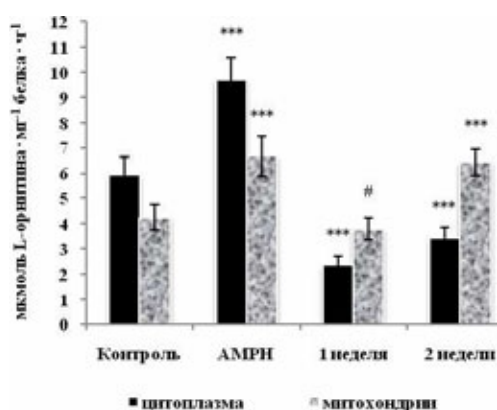


Рис. 2. Вреязависимые сдвиги субклеточной активности аргиназы лейкоцитов крови при АМРН-индуцированном БПР

Амфетамин-индуцированный выброс катехоламинов может вызывать изменения в фенотипе активированных макрофагов, которые содержат рецепторы для катехоламинов и в широком смысле классифицируются как про- и противовоспалительные фенотипы, M1 и M2 соответственно [30]. Известно, что в присутствии липополисахарида (ЛПС), структурного компонента клеточной стенки грамотрицательных бактерий, перитонеальные макрофаги мышей приобретают фенотип M1, но одновременное присутствие ЛПС и адреналина либо норадреналина снижает экспрессию маркеров M1 и способствует выраженному проявлению M2 фенотипа, для которого характерен высокий уровень АРГ1 и интерлейкина-10 [18]. Кроме того, адреналин усиливает фагоцитоз макрофагов и стимулирует *in vitro* Th-2 клеточный ответ, активирующий M2, когда продуцируется ряд цитокинов, в том числе IL-4, IL-10, усиливающих выработку аргиназы и подавляющих экспрессию NOS, а при доминирующем Th-1 ответе вырабатываются цитокины IFN- γ , IL-1 β , IL-6, TNF- α , индуцирующие NOS [26].

В органах и тканях млекопитающих и человека функционируют основные изоформы NOS: нейрональная, участвующая в механизмах нейротрансмиссии и разных сигнальных путях, эндотелиальная, регулирую-

шая сосудистый тон, кровоток и тканевую перфузию, и индуцибельная (iNOS), эффекторная молекула врожденной иммунной системы [8, 38]. Недавно открыта митохондриальная NOS (mtNOS), которая обратимо ингибирует цитохром оксидазу, функционально связана с комплексом I митохондриальной дыхательной цепи, при инактивировании которого оказывает проокислительное действие [31]. NO участвует в ретроградной сигнализации глутаматергических, а в гиппокампе и ГАМКергических синапсов, в которых локализована нейрональная NOS, потенцирует их в физиологических концентрациях [41]. Сверхэкспрессия высокопроизводительной iNOS, способной длительное время продуцировать NO, лежит в основе нейротоксических эффектов амфетамина, продемонстрированных на линии клеток микроглии крыс [43]. Психостимуляторы амфетамин нового ряда индуцируют гиперпродукцию активных форм азота и кислорода, что может приводить к нарушению гематоэнцефалического барьера (в этом участвует эндотелиальная NOS) и трансэндотелиальной миграции лейкоцитов [24, 35].

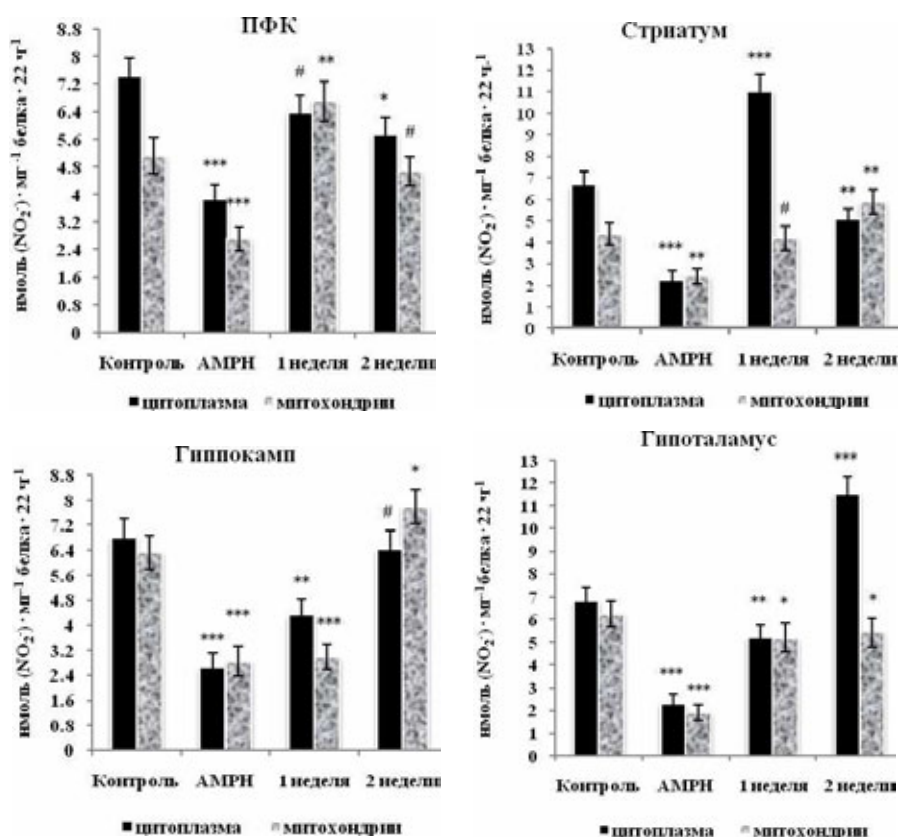


Рис. 3. Вреязависимые сдвиги субклеточной активности NO синтазы в отделах кортиколимбической системы при AMPH-индуцированном БПР

Нами было изучено влияние дексамфетамина на совокупную активность изоформ NOS, которые представлены в цитоплазме и митохондриях как нервной ткани, так и лейкоцитов. Как видно из рис. 3, в первой опытной группе происходило снижение цитоплазматической продукции NO в 1.9, 2.9, 2.6 и 3 раза, а митохондриальной – в 1.9, 1.8, 2.2 и 3.3 раза в ПФК, стриатуме, гиппокампе и гипоталамусе соответственно, по сравнению с контрольными значениями. В постамфетаминный период наблюдалась тенденция к нормализации активности NOS в субклеточных фракциях всех исследуемых отделов мозга.

Примечательно, что AMPH вызывал также снижение общей активности NOS в 2.2 и 2.4 раза в цитоплазме и митохондриях лейкоцитов, соответственно по сравнению с контролем (рис. 4). В течение первых двух недель после отмены препарата происходило возрастание субклеточной NOS-зависимой продукции NO лейкоцитами, и наибольшее активирование наблюдалось спустя неделю после отмены амфетамина. Однако и через две недели постамфетаминного периода активность фермента в цитоплазме лейкоцитов оставалась в 1.7 раза ниже контрольных значений, тогда как в митохондриях практически нормализовалась.

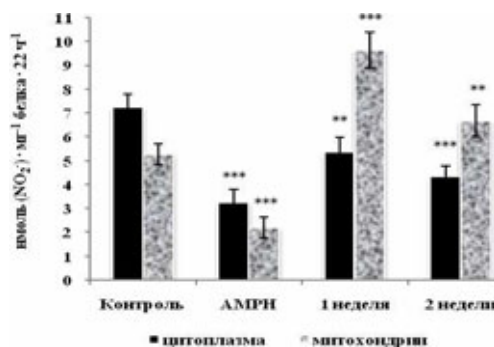


Рис. 4. Вреязависимые сдвиги субклеточной активности NO синтазы лейкоцитов крови при AMPH-индуцированном БПР

Активирование изоформ аргиназы может вносить свой вклад во внутриклеточное ингибирование NO-синтазы как в отделах кортиколимбической системы, так и в лейкоцитах крови [38]. Как известно, реципрокная регуляция NOS и аргиназы контролирует пул аргинина во всех органах и тканях, в которых они конкурируют за общий субстрат, и их взаимовлияние играет роль в процессах нейро- и иммунорегуляции [21, 34]. При этом аргиназа не только конкурирует с NOS за общий субстрат, но и, снижая уровень аргинина, влияет на ее активность, поскольку L-аргинин стабилизирует структуру всех изоформ NOS [8]. При расщеплении аргинина аргиназой образуются орнитин и мочевина, которая подавляет самосборку мономеров NOS в активный димер в макрофагах [27]. Не

исключено, что первый интермедиат реакции NOS, N^G -гидрокси-L-аргинин, вносит свой вклад в отсроченное снижение активности аргиназы, поскольку является ее мощным ингибитором [11].

Таким образом, впервые на животной модели БПР показано, что прием возрастающих субтоксических доз дексамфетамина стимулирует в цитоплазме и митохондриях изоформы аргиназы в регионах кортиколимбической системы мозга и лейкоцитах крови, с одновременным снижением в них общей активности NOS. Изоформы аргиназы могут вносить свой вклад во внутриклеточное ингибирование NOS, влияя на механизмы БПР. Смещение баланса активностей изоформ аргиназы с доминированием ARG1 может направлять катаболизм аргинина в сторону преимущественного синтеза глутамата или пролина в цитоплазме, а также включать механизмы формирования противовоспалительного фенотипа макрофагов. Альтернативное воздействие наблюдается спустя одну или две недели после отмены дексамфетамина, когда имеет место превалирование ARG2 в регионах мозга и лейкоцитах, которое метаболически нацелено на превращение орнитина в путресцин и далее в полиамины, повышение концентрации которых оказывает психотропное действие [39]. Исследование роли изоформ аргиназы в патофизиологии БПР открывает перспективу их использования в качестве терапевтической мишени.

Поступила 22.09.16

**Նյութափոխանակության առանձնահատկությունները
կեղևալիմբիական համակարգում և արյան մեջ
դեքսամֆետամինով մակածված երկրենե
խանգարման ժամանակ:
Արգինինի փոխակերպման այլընտրանքային ուղիները
(Հաղորդում 1)**

**Հ.Ա. Մովսեսյան, Ն.Խ. Ալյուջյան, Ն.Հ. Մովսեսյան,
Մ.Ռ. Հովհաննիսյան, Ա.Մ. Հակոբյան, Գ.Գ. Մինասյան,
Հ.Ֆ. Խաչատրյան, Գ.Ա. Գևորգյան**

Երկրենե խանգարման մոդելի օգտագործմամբ առաջին անգամ ցույց է տրվել, որ դեքսամֆետամինի աճող ոչ տոքսիկ դեղաքանակները խթանում են արգինազի իզոմերների ակտիվությունը և միաժամանակ նվազեցնում ազոտի օքսիդի սինթազի ընդհանուր ակտիվությունը ուղեղի կեղևալիմբիական հատվածների և արյան լեյկոցիտների բջջապլազմայում և միտոքոնդրիումներում: Արգինազի և ազոտի օքսիդի սինթազի ներբջջային ակտիվությունների տեղաշարժերը իրենց

լուման են ներդնում երկբևեո խանգարման պաթոֆիզիոլոգիայում և նոթ հեոանկարներ բացում դրանք՝ որպես թերապևտիկ թիրախներ օգտագործելու համար:

**Specificity of metabolic pathways in the corticolimbic system and blood in dexamphetamine-induced bipolar disorder.
Alternative pathways of the arginine conversion
(Report 1)**

**H.A. Movsesyan, N.Kh. Alchujyan, N.H. Movsesyan,
M.R. Hovhannisyan, A.M. Hakobyan, G.G. Minasyan,
H.F. Khachatryan, G.A. Kevorkian**

Using the model of bipolar disorder (BD) we have shown for the first time that administration of escalating nontoxic doses of dexamphetamine may stimulate the arginase isoforms with a simultaneous decrease in the nitric oxide synthase (NOS) activity in the cytoplasm and mitochondria of the blood leukocytes and the brain corticolimbic regions. The shift in the intracellular balance of the arginase and NOS activities might be contributed to the BD pathophysiology that opens new prospects for their use as therapeutic targets.

Литература

1. *Авагян О.Х.* Особенности субклеточного метаболизма и влияние бактериальной терапии при асцитной карциноме Эрлиха: креатин. Сообщение 2. Мед. наука Армении НАН РА, 2013, т. LIII, N 2, с. 34–44.
2. *Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон П.* Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М., 1991.
3. *Геворкян Г.А., Акопян А.М., Мовсесян О.А., Агабабова А.А.* Микробиота кишечника крыс под воздействием амфетамина. Докл. НАН РА, 2016, т. 116 (4), с. 22–26.
4. *Дижее Г.П., Ещенко Н.Д., Дижее А.А., Красовская И.Е.* Введение в технику биохимического эксперимента. СПб., 2003.
5. *Проскуряков С.Я., Конопляников А.Г., Скворцов В.Г., Мандругин А.А., Федосеев В.М.* Структура и активность ингибиторов NO-синтаз, специфичных к L-аргининсвязывающему центру. Биохимия, 2005, т. 70 (1), с. 14–32.
6. *Сосунов А.А.* Оксид азота как межклеточный посредник. Сорос. Образ. Журн., 2000, 10, с. 105–110.
7. *Фрик Г., Прейснер З.С., Иенсен Г.Л., Бурмейстер Ю.* В кн.: Иммунологические методы (под ред. Х. Фримеля), М., 1979.
8. *Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G.* Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. Biochem. J., 2001, v. 357, p. 593–615.
9. *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.

10. Bialer M. Why are antiepileptic drugs used for nonepileptic conditions? *Epilepsia*, 2012, v. 53 (Suppl 7), p. 26–33.
11. Boucher J.L., Moali C., Tenu J.P. Nitric oxide biosynthesis, nitric oxide synthase inhibitors and arginase competition for L-arginine utilization. *Cell Mol. Life Sci.*, 1999, v. 55, 8-9, p. 1015–1028.
12. Bustamante J., Czerniczyniec A., Lores-Arnaiz S. Brain nitric oxide synthases and mitochondrial function. *Front. Biosci.*, 2007, 12, p. 1034–1040.
13. Cederbaum S.D., Yu H., Grody W.W., Kern R.M., Yoo P. Arginases I and II: do their functions overlap? *Mol. Genet. Metab.*, 2004, v. 81 (Suppl 1), p. S38–S44.
14. Costa G., Morelli M., Simola N. Involvement of Glutamate NMDA Receptors in the Acute, Long-Term, and Conditioned Effects of Amphetamine on Rat 50kHz Ultrasonic Vocalizations. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2015, v. 18, 11, p. 507–519.
15. Einat H., Shaldubina A., Bersudsky Y., Belmaker R.H. Prospects for the Development of Animal Models for the Study of Bipolar Disorder. In: *Bipolar disorders: basic mechanisms and therapeutic implications*. 2nd ed.(edited by J.C. Soares, A.H. Young), Informa Healthcare USA, Inc. New York, London, 2007, p. 1–420.
16. Frey B.N., Valvassori S.S., Réus G.Z., Martins M.R., Petronilho F.C. Effects of lithium and valproate on amphetamine-induced oxidative stress generation in an animal model of mania. *J. Psychiatry Neurosci.*, 2006, v. 31, 5, p. 326–332.
17. Gagnon C., Leblond F.A., Filep J.G. Peroxynitrite production by human neutrophils, monocytes, lymphocytes challenged by lipopolysaccharide. *FEBS Lett.*, 1998, v. 431, 1, 107–110.
18. Grailer J.J., Haggadone M.D., Sarma J.V., Zetoune F.S., Ward P.A. Induction of M2 regulatory macrophages through the β 2-adrenergic receptor with protection during endotoxemia and acute lung injury. *J. Innate Immun.*, 2014, v. 6, 5, p. 607–618.
19. Iyamu E.W., Asakura T., Woods G.W. A colorimetric microplate assay method for high throughput analysis of arginase activity in vitro. *Anal. Biochem.*, 2008, v. 383, 2, p. 332–334.
20. Kalivas P.W. Cocaine and amphetamine-like psychostimulants: neurocircuitry and glutamate neuroplasticity. *Dialogues Clin. Neurosci.*, 2007, v. 9, p. 389–397.
21. Kittel-Schneider S., Reuß M., Meyer A., Weber H., Gessner A. Multi-level biomarker analysis of nitric oxide synthase isoforms in bipolar disorder and adult ADHD. *J. Psychopharmacol.*, 2015, v. 29, 1, p. 31–38.
22. Kondoh T., Kameishi M., Mallick H.N., Ono T., Torii K. Lysine and arginine reduce the effects of cerebral ischemic insults and inhibit glutamate-induced neuronal activity in rats. *Front. Integr. Neurosci.*, 2010, v. 4, p. 18–23.
23. 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.
24. Martins T., Burgoyne T., Kenny B.-A., Hudson N., Futter C. E. Methamphetamine-induced nitric oxide promotes vesicular transport in blood–brain barrier endothelial cells. *Neuropharmacol.*, 2013, v. 65, p. 74–82.
25. Merikangas K.R., Jin R., He J.P., Kessler R.C. et al. Prevalence and correlates of bipolar spectrum disorder in the world mental health survey initiative. *Arch. Gen. Psychiatry*, 2011, v. 68, p. 241–251.
26. Modolell M., Corraliza I.M., Link F. et al. Reciprocal regulation of the nitric oxide synthase/arginase balance in mouse bone marrow-derived macrophages by TH1 and TH2 cytokines. *Eur. J. Immunol.*, 1995, v. 25, 4, p. 1101–1104.
27. Moeslinger T., Friedl R., Volf I. et al. Urea induces macrophages proliferation by inhibition of inducible nitric oxide synthesis. *Kidney Int.*, 1999, v. 56, 2, p. 581–588.
28. Morris S.M.Jr. Arginases and arginine deficiency syndromes. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care*, 2012, v. 15, 1, p. 64–70.
29. Movsesyan H.A., Alchujyan N.Kh., Aghababova A.A. et al. Effects of d-amphetamine on the regional activity of arginase isoforms in the rat corticolimbic brain. *Proceedings YSU*, 2016, 3, p. 39–46.

30. Murray P.J., Wynn T.A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nature Rev. Immunol.*, 2011, v. 11, 11, p. 723–737.
31. Parihar M.S., Parihar A., Villamena F.A. *et al.* Inactivation of mitochondrial respiratory chain complex I leads of mitochondrial nitric oxide synthase to become pro-oxidative. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2008, v. 367 (4), p. 761–767.
32. Paulson P.E., Camp D.M., Robinson T.E. Time course of transient behavioral depression and persistent behavioral sensitization in relation to regional brain monoamine concentrations during amphetamine withdrawal in rats. *Psychopharmacology (Berl)*, 1991, v. 103, 4, p. 480–492.
33. Philippu A. Nitric Oxide: A Universal Modulator of Brain Function. *Curr. Med. Chem.*, 2016, Jun 27. [Epub ahead of print]
34. Popovic P.J., Zeh III H.J., Ochoa J.B. Arginine and immunity. *J. Nutr.*, 2007, v. 137, p. 1681S–1686S.
35. Quinton M.S., Yamamoto B.K. Causes and consequences of methamphetamine and MDMA toxicity. *AAPS J.*, 2006, v. 8, p. E337–E347.
36. Robinson T.E., Camp D.M. Long-lasting effects of escalating doses of d-amphetamine on brain monoamines, amphetamine-induced stereotyped behavior and spontaneous nocturnal locomotion. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 1987, v. 26, 4, p. 821–827.
37. 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.
38. Stolarek R., Kula P., Kurmanowska Z., Novak D. Effect of various agonists on nitric oxide generation by human polymorphonuclear leucocytes. *Int. Clin. Lab. Res.*, 1998, v. 28, 2, p. 104–109.
39. Svinarev V.I., Syatkin S.P., Frolov V.A. *et al.* The role of polyamines in etiopathogenesis of schizophrenia. Springer Wien New York. *Amino Acids*, 2007, v. 33, p. 431.
40. Swiergiel A.H., Leskov I.L., Dunn A.J. Effects of chronic and acute stressors and CRF on depression-like behavior in mice. *Behav. Brain Res.*, 2008, v. 186, 1, p. 32–40.
41. Szabadits E., Cserep C., Ludanyi A. *et al.* Hippocampal GABAergic synapses possess the molecular machinery for retrograde nitric oxide signaling. *J. Neurosci.*, 2007, v. 27, p. 8101–8111.
42. Tapiero H., Mathe G., Couvreur P., Tew K.D. L-Arginine. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 2002, v. 56, 9, p. 439–445.
43. Tocharus J., Chongthammakun S., Govitrapong P. Melatonin inhibits amphetamine-induced nitric oxide synthase mRNA overexpression in microglial cell lines. *Neurosci. Lett.*, 2008, v. 439, 2, p. 134–137.
44. Wegener G., Volke V., Harvey B.H., Rosenberg R. Local, but not systemic, administration of serotonergic antidepressants decreases hippocampal nitric oxide synthase activity. *Brain Res.*, 2003, v. 959, p. 128–134.
45. Wu G., Morris S.M. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem. J.*, 1998, v. 336, p. 1–17.
46. Zomkowski A.D., Santos A.R., Rodrigues A.L. Putrescine produces antidepressant-like effects in the forced swimming test and in the tail suspension test in mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*, 2006, v. 30, p. 1419–1425.