

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

EXPERIMENTAL RESEARCH

Патологическая физиология

Pathophysiology

doi: 10.25005/2074-0581-2024-26-1-57-66

ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДЕПРЕССИИ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНО-НАДПОЧЕЧНИКОВОЙ СИСТЕМЫ

Н.А.Д. РАЗЛАН¹, М.Ю. КАПИТОНОВА¹, Р.Н. АЛЯУТДИН^{2,3}, С.Б. ТАЛИП¹, Н. РАМЛИ¹, Т.М. НВЕ⁴

¹ Факультет медицины и здравоохранения, Университет Малайзии Саравак, Кота Самарахан, Малайзия

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

³ Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва, Российская Федерация

⁴ Королевский колледж медицины, Университет ЮниКЛ, Ипох, Малайзия

Цель: изучить влияние моделированной депрессии, не связанной со стрессом, на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему (ГНЧС) у мышей.

Материал и методы: эксперименты проведены на 24 мышах породы C57BL/6 весом 20-25 г, разделённых на 2 группы: экспериментальная группа включала животных, которым производилось моделирование депрессии введением резерпина; контрольной группе вместо резерпина вводили физиологический раствор. По окончании эксперимента выполнены поведенческие тесты (открытое поле, предпочтение сахарозы, принудительное плавание), измерена концентрация кортикостерона в крови методом ELISA, произведён имидж-анализ гистологических изменений в надпочечнике и тимусе. Статистическая обработка данных проводилась с применением программы SPSS 27.0.1; различия считались значимыми при $p < 0,05$.

Результаты: у животных экспериментальной группы по сравнению с животными контрольной группы отмечен статистически значимо более высокий уровень кортикостерона в крови ($p < 0,01$), значимые изменения поведения в тесте открытое поле (пройденное расстояние, количество вертикальных стоек, количество болюсов, $p < 0,01$), снижение предпочтения сахарозы ($p < 0,01$) и сокращение активной фазы в тесте принудительного плавания ($p < 0,01$). Кроме того, у мышей экспериментальной группы по сравнению с контрольной группой обнаружено статистически значимое увеличение удельной площади сетчатой зоны коры надпочечников ($p < 0,05$), а также площади спонгиозитов и их ядер в ней ($p < 0,05$). В тимусе животных экспериментальной группы по сравнению с контрольной группой отмечено статистически значимое уменьшение корково-мозгового соотношения ($p < 0,01$); а также увеличение удельной площади макрофагов, захвативших апоптозные тельца ($p < 0,01$), по сравнению с контрольными животными.

Заключение: моделированная депрессия у мышей, не связанная со стрессом, глубина которой оценивалась поведенческими реакциями, вызывала активацию ГНЧС, проявляющуюся повышением уровня кортикостерона, гиперплазией сетчатой зоны коры надпочечников, гипертрофией спонгиозитов и их ядер в ней, а также микроскопическими изменениями в тимусе, свидетельствующими об ассоциированной иммуносупрессии. Таким образом, исследование показало, что, наряду с хорошо известным феноменом развития депрессии на фоне хронического стресс-ассоциированного повышения активности ГНЧС, имеет место обратный механизм, приводящий к активации ГНЧС при развитии депрессии, не связанной со стрессом, который необходимо учитывать при выработке новых подходов к лечению депрессии.

Ключевые слова: депрессия, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая система, кортикостерон, иммунная система, мыши.

Для цитирования: Разлан НАД, Капитонова МЮ, Аляутдин РН, Талип СБ, Рамли Н, Нве ТМ. Влияние экспериментальной депрессии на функциональное состояние гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. *Вестник Авиценны*. 2024;26(1):57-66. <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2024-26-1-57-66>

EXPERIMENTAL DEPRESSION-MODULATED ACTIVATION PATTERN OF THE HYPOTHALAMIC-PITUITARY-ADRENAL AXIS

N.A.D. RAZLAN¹, M. KAPITONOVA¹, R.N. ALYAUTDIN^{2,3}, S.B. TALIP¹, N. RAMLI¹, T.M. NWE⁴

¹ Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Malaysia Sarawak, Kota Samarahan, Malaysia

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

³ Scientific Center of Expertise of Medical Products, Moscow, Russian Federation

⁴ Royal College of Medicine, UniKL, Ipoh, Malaysia

Objective: To study the effect of modelled depression not associated with stress on the hypothalamic-pituitary-adrenal system (HPAS) in mice.

Methods: The experiment was conducted on the twenty-four C57BL/6 mice weighing 20-25 g, divided into two groups: an experimental one, involving animals with reserpine-induced depression, and a control one, the animals of which were administered normal saline instead of reserpine solution. At the end of the experiment, behavioral tests were performed (open field, sucrose preference, forced swimming), and the corticosterone concentration in blood was measured using ELISA. Image analysis of histological changes in the adrenal gland and thymus was performed. All results were statistically processed using SPSS 27.0.1 software, with $p < 0.05$ indicating the significance of differences.

Results: Animals of the experimental group showed a significantly higher level of corticosterone in the blood ($p < 0.01$), significant changes in behavior in the open field test (distance traveled, rearing, frequency of urination and defecation, $p < 0.01$), reduced sucrose preference ($p < 0.01$) and shortened duration of the active phase in the forced swimming test ($p < 0.01$) than the animals of the control group. Besides, in the mice of the experimental group, a significant increase in the volume density of the zona fasciculata of the adrenal cortex was found ($p < 0.05$), as well as the area of its spongiocytes and

their nuclei ($p < 0.05$). In the thymus of the experimental animals, a significant decrease in the cortex-medulla ratio was noted ($p < 0.05$); and an increase in the volume density of tingible body macrophages ($p < 0.05$) compared to the control group of mice.

Conclusion: Modelled depression, not associated with stress, the depth of which was assessed by behavioral tests, caused activation of the HPAS, manifested by increased corticosterone levels, hyperplasia of the zona fasciculata of the adrenal cortex, hypertrophy of its spongiocytes and their nuclei, as well as changes in the thymus, indicating associated immunosuppression. Thus, the study showed that, along with the well-known phenomenon of the development of depression against the background of chronic stress-associated activation of HPAS, there is an inverse mechanism leading to activation of the HPAS during the development of depression not associated with stress, which must be taken into account when developing the new strategies of treating depression.

Keywords: Depression, hypothalamic-pituitary-adrenal system, corticosterone, immune system, mice.

For citation: Razlan NAD, Kapitonova M, Alyautdin RN, Talip SB, Ramli N, Nve TM. Vliyaniye eksperimental'noy depressii na funktsional'noe sostoyaniye gipotalamo-gipofizarno-nadpochechnikovoy sistemy [Experimental depression-modulated activation pattern of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis]. *Vestnik Avitsenny [Avicenna Bulletin]*. 2024;26(1):57-66. <https://doi.org/10.25005/2074-0581-2024-26-1-57-66>

ВВЕДЕНИЕ

Депрессия – наиболее распространённое нарушение психического здоровья [1], и рост её распространённости является настораживающим. Так, в 1990 году она была обнаружена у 172 млн человек, а в 2017 году – у 258 млн, то есть увеличение составило 49,86% [2]. Пандемия COVID-19 ухудшила положение дел с депрессивными расстройствами в мире. По данным ВОЗ [3], согласно исследованиям Institute of Health Metrics and Evaluation. Global Health Data Exchange (GHDx), по состоянию на 4 марта 2023 года ей страдает 3,8% населения, в том числе 5% взрослых людей. Во всём мире от депрессии страдает порядка 280 миллионов человек [4, 5]. Однако эффективное лечение депрессии, по-прежнему, остаётся нерешённой задачей современной медицины [6]. Требуется всемерно улучшать профилактику и лечение депрессии, однако эта задача не выполнима без лучшего понимания её механизмов.

В патофизиологии депрессии, гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковая ось (ГГНО) признаётся основным связующим звеном между несколькими индуцирующими моментами, такими как дисфункциональный нейрогенез и нарушение нейротрансмиссии, а также иммунологические и эндокринные факторы [7-10]. Состояние ГГНО является критичным для поддержания психического и физического здоровья. Многочисленные эксперименты показали, что моделированный стресс вызывает активацию ГГНС, что приводит к развитию депрессии. Клинические исследования показали, что дисрегуляция ГГНС связана с развитием как физических, так и психических расстройств [10-13]. Одним из звеньев патогенеза депрессии у человека является дисрегуляция ГГНО, проявлением которой является обнаруженная при аутопсии у пациентов с тяжёлой депрессией гиперплазия сетчатой зоны коры надпочечников [14].

Установлено, что при стрессе выброс глюкокортикоидов приводит к снижению уровня нейротрофических факторов в гиппокампе, что приводит к развитию в нём атрофических изменений и развитию депрессии, в то время как эффективные антидепрессанты способны повысить уровень последних в головном мозге, выступить промотором дифференцировки гиппокампальных предшественников и нормализовать моноаминергическую синаптическую трансмиссию [10]. Однако, как влияет сама депрессия на ГГНО, остаётся неизученным.

Цель исследования

Изучить влияние моделированной депрессии, не связанной со стрессом, на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему (ГГНС) у мышей.

INTRODUCTION

Depression is the most common mental problem worldwide [1], and its fast spread is threatening. The number of incident cases of depression worldwide increased from 172 million in 1990 to 258 million in 2017, comprising an increase of 49.86% [2]. The emergence of the COVID-19 pandemic has even more exacerbated specific determinants of depressive disorders. According to WHO, based on the data obtained from the Institute of Health Metrics and Evaluation. Global Health Data Exchange (GHDx) [3] by March 4, 2023, the overall prevalence of depression reached 3.8%, while in adults, it comprised 5%. Currently, over 280 million people suffer from depression [4, 5]. So far, the effective treatment of depression remains to be an unresolved problem [6]. Better prevention and treatment strategies are required to control the spread of this disorder, but this task is impossible without a better understanding of its pathogenesis.

In the pathophysiology of depression, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPAA) is recognized as a major neurobiological link between its inducing factors, such as dysfunctional neurogenesis and neurotransmission, immunological and endocrine factors [7-10]. The condition of the HPAA is critical for maintaining mental and physical health. Experimental research showed that in modelled stress, activation of HPAA results in the development of depression. Clinical investigations demonstrated that dysregulation of the HPAA has been linked to several mental and physical disorders [10-13]. Activation of the HPAA is considered one of the links to the pathogenesis of depression in humans, as confirmed by the autopsy finding of hyperplasia of the zona fasciculata of the adrenal cortex in patients with heavy depression [14].

In stress, glucocorticoid signaling reduces the level of neurotrophic factors, such as brain-derived neurotrophic factor (BDNF), in the hippocampus, resulting in its atrophic changes and the development of depression. Effective antidepressants increase the level of BDNF in the brain, promote differentiation of hippocampal progenitors, and alter monoaminergic synaptic transmission [10], but it remains unclear how depression itself affects HPAA.

PURPOSE OF THE STUDY

To study the effect of modelled depression not associated with stress on the HPAS in mice.

METHODS

Twenty-four C57BL/6 mice weighing 20-25 g were involved in the study. They were housed with 3-4 mice per cage, 12-hour

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В эксперименте использовали 24 мыши-самца породы C57BL/6 весом 20-25 г; они содержались в стандартных клетках по 3-4 особи в каждой, в условиях 12-часового цикла день/ночь при комнатной температуре. Животные имели доступ *ad libitum* к стандартной корму для грызунов и водопроводной воде. Перед началом эксперимента они прошли габитуацию к стандартным условиям вивария. Протокол эксперимента одобрен институциональным этическим комитетом (UNIMAS/AEC/R/F07/060). Животные были разделены на 2 группы, по 12 животных в каждой: I группа – контрольная, она включала животных, которым ежедневно вводили физиологический раствор; II группа – экспериментальная, в неё включались животные, у которых моделировалась депрессия [15]; они ежедневно получали инъекции раствора резерпина в дозе 1 мг/кг веса.

В конце эксперимента производились поведенческие тесты для оценки глубины моделированной депрессии. Они включали тест «открытое поле» с использованием модели Panlab Harvard размером [45 (ширина) × 45 (длина) × 40 (высота)] с USB цифровой камерой и программным обеспечением SMART 3.0 видеотрекинг (Barcelona, Spain), для оценки пройденного расстояния, количества задних стоек, груминга, мочеиспускания и дефекации [16, 17]; а также теста предпочтения сахарозы [18]; и принудительного плавания [15, 17]. Концентрация кортикостерона в крови оценивалась с помощью теста ELISA с использованием микропланшетного считывателя (SpectraMax iD3, USA). По завершении последнего поведенческого теста у животных забирали кровь из хвостовой вены и помещали её в гепаринизированную пробирку. После центрифугирования проводили иммуноферментный анализ супернатанта с применением набора реактивов для определения концентрации кортикостерона в соответствии с рекомендациями производителя.

После этого животных умертвляли посредством декапитации. Извлекали левый надпочечник и тимус для их микроскопической оценки. Гистологические препараты, окрашенные гематоксином-эозином, просматривали в микроскопе Zeiss Primostar 3, (Jena, Germany). Имидж-анализ проводили с применением программного обеспечения Image Pro+ 7.0 (Media Cybernetics, USA). В коре надпочечника оценивали удельную площадь пучковой зоны и размеры спонгиозитов и их ядер. В тимусе оценивали корково-мозговое соотношение и удельную площадь макрофагов, захвативших апоптозные тельца.

Все полученные результаты обрабатывали статистически с использованием программы SPSS 27.0.1; использовался однофазный дисперсионный анализ ANOVA с применением критерия Тьюки; для имидж-анализа гистологических препаратов применялся t-критерий Стьюдента, различия считались статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ горизонтальной активности животных в тесте открытое поле показал, что у животных II группы она практически ограничена периферической частью арены. Образец траектории движений животных экспериментальной и контрольной групп представлены на рис. 1.

Различия параметров теста «открытое поле» у животных разных групп продемонстрированы на рис. 2.

Как следует из рис. 2, у животных экспериментальной группы отмечалось статистически значимое снижение пройденного

light, and dark cycles, and at room temperature. Standard tap water and standard rodent chow were available *ad libitum*. Before the experiment, the animals were habituated to various handling procedures. The study design was approved by the UNIMAS Animal Ethics Committee (UNIMAS/AEC/R/F07/060). Animals were divided into two groups, with 12 mice per group. Group 1 (control) included mice receiving s.c. injections of normal saline. Group 2 (experimental) involved animals with modeled depression [15], they received s.c. injections of the reserpine solution at a dose of 1 mg/kg.

Behavioral tests were performed at the end of the experiment to assess the severity of depression. They included an open field [45 (W) × 45 (D) × 40 (H) cm] test (Panlab Harvard with USB digital camera and SMART 3.0 video tracking software, Barcelona, Spain) with the distance walked, rearing, defecation and urination frequencies evaluated [16, 17]; sucrose preference test [18]; and a forced swimming test [15, 17]. The corticosterone concentration in blood was measured by ELISA assay using a microplate reader (SpectraMax iD3, USA). After the last behavioral test was completed, test, blood from the tail vein was sampled and placed into a heparinized tube. Samples were centrifuged, and the supernatants were tested by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit for corticosterone, following the manufacturer's protocol.

After that, the animals were sacrificed by decapitation. Adrenal glands and thymus were sampled for microscopic examination. The histological slides were stained with hemotoxylin-eosin and viewed under the microscope Zeiss Primostar 3 (Jena, Germany). Image analysis was performed using Image Pro+ 7.0 software (Media Cybernetics, USA). In the adrenal gland, the volume density of the zona fasciculata in the cortex and the area of spongiocytes and their nuclei were assessed. In the thymus cortico-medullary ratio and the volume density of the tingible body macrophages were evaluated.

All results were statistically processed using SPSS 27.0.1 software; one-way ANOVA dispersion analysis was applied with Tukey's test used; for the image analysis of histological slides Student's t-test was applied with $p < 0.05$, indicating the significance of differences.

RESULTS

Analysis of the mice's horizontal activity in the open field test showed that in the experimental animals, it was confined to the peripheral part of the field. Fig. 1 shows an example of the itinerary travelled by the experimental and control animals.

As follows from Fig. 2, the distance traveled, and the rearing was significantly reduced in the experimental animals compared to the control mice. At the same time, the urination/defecation rate was meaningfully less in the control animals ($p < 0.01$).

The results of the forced swimming test are shown in Fig. 3.

As shown in the Fig. 3, the duration of the active phase ("swimming" and "struggling") was significantly shorter in experimental animals compared to the control ones, while "floating" was meaningfully shorter in the control mice ($p < 0.01$).

Sucrose preference was shown to be significantly reduced in the experimental animals compared to the control mice ($p < 0.01$) (Fig. 4).

ELISA test showed that the level of serum corticosterone was significantly higher in the experimental animals compared to the control mice ($p < 0.01$) (Fig. 4).

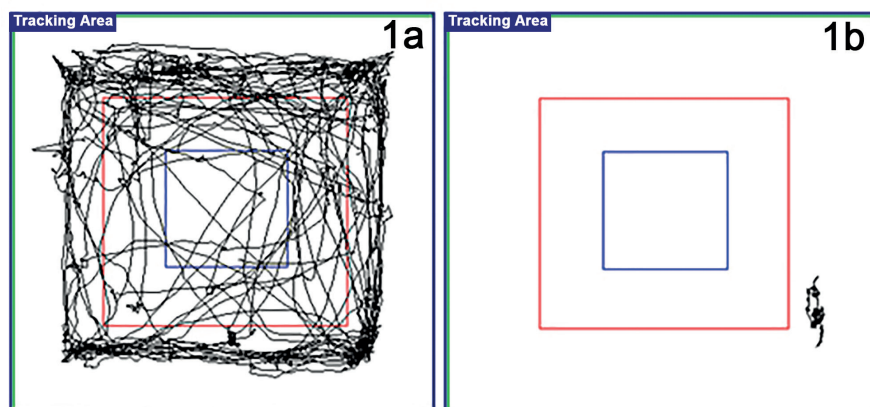


Рис. 1 Траектория движения в тесте «открытое поле» животных контрольной (а) и экспериментальной (б) групп

Fig. 1 Horizontal activity of the control (a) and experimental (b) animals in the open field test

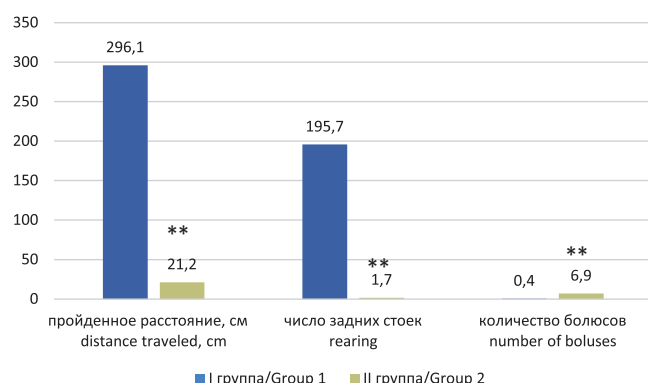


Рис. 2 Поведенческие реакции экспериментальных и контрольных животных в тесте «открытое поле». ** – $p < 0,01$ при сравнении с контрольной группой

Fig. 2 Behavioral test results of the experimental and control animals in the open field. ** – $p < 0.01$ compared with a control group

расстояния ($p < 0,01$), количества задних стоек ($p < 0,01$), в то время как количество болюсов значительно увеличивалось ($p < 0,01$) по сравнению с животными контрольной группы.

Результаты теста принудительного плавания представлены на рис. 3.

Как следует из рис. 3, продолжительность активного периода (период «плавания» и «сопротивления») была статистически значительно ниже у животных экспериментальной группы по сравнению с животными контрольной группы; в то время как период «зависания» у них был значительно продолжительнее ($p < 0,01$).

Предпочтение сахарозы значительно снижалось у животных экспериментальной группы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,01$) (рис. 4).

Иммуноферментный анализ показал, что уровень кортикостерона в крови животных экспериментальной группы был значительно выше, чем у животных контрольной группы ($p < 0,01$) (рис. 4).

На гистологических препаратах надпочечников животных контрольной группы в корковом веществе четко определялись три зоны: клубочковая, пучковая и сетчатая (рис. 5а). Клубочковая зона имела наименьшую толщину, в ней относительно мелкие клетки цилиндрической или пирамидальной формы образовывали овоидные кластеры. В округлых или овальных ядрах определялись ядрышки. Пучковая зона имела наибольшую толщину, клетки в ней отличались светлой пенистой цитоплазмой, были собраны в тяжи толщиной в один или два ряда клеток. В крупных светлых ядрах отмечались 1-2 ядрышка; наряду с клет-

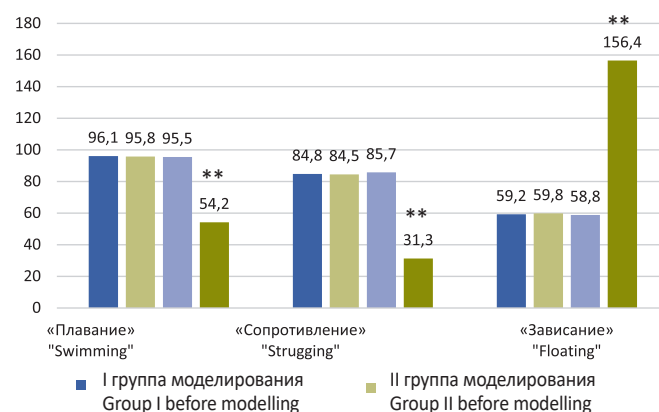


Рис. 3 Распределение активности в тесте принудительного плавания у экспериментальных и контрольных животных до и после моделирования депрессии. ** – $p < 0,01$ при сравнении с контрольной группой

Fig. 3 Distribution of the activities of the experimental and control animals in the forced swimming test before and after the experiment. ** – $p < 0.01$ compared with a control group

On the histological slides of the adrenal gland of the control animals, three zones were clearly defined in the cortex: zona glomerulosa, fasciculata and reticularis (Fig. 5a). The zona glomerulosa was the thinnest out of the three; its relatively small cells of a cylindrical or pyramidal shape formed ovoid clusters. Round or oval nuclei usually contained nucleoli. The zona fasciculata was the widest in the adrenal cortex; its cells contained light foamy cytoplasm and formed the cords one or two cell rows thick. The nuclei of spongiocytes were large, light, and contained one or two nucleoli. Though dominated by the cells with light cytoplasm, zona fasciculata displayed a small number of cells with dark cytoplasm. Cells of the zona reticularis were smaller in size and had a light eosinophilic cytoplasm, which sharply contrasted with the weakly basophilic cytoplasm of the cells in the adrenal medulla.

In animals of the experimental group, the microscopic picture of zonae glomerulosa and reticularis did not differ significantly from the control group. At the same time, the zona fasciculata was hyperplastic, its cells were larger in size, the cytoplasm was foamier, and adenocytes with dark cytoplasm were scarce (Fig. 5b).

In the histological slides of the thymus in the control group, the cortical layer in the lobules distinctly dominated over the medulla with prominent cortico-medullary demarcation (Fig. 5c).

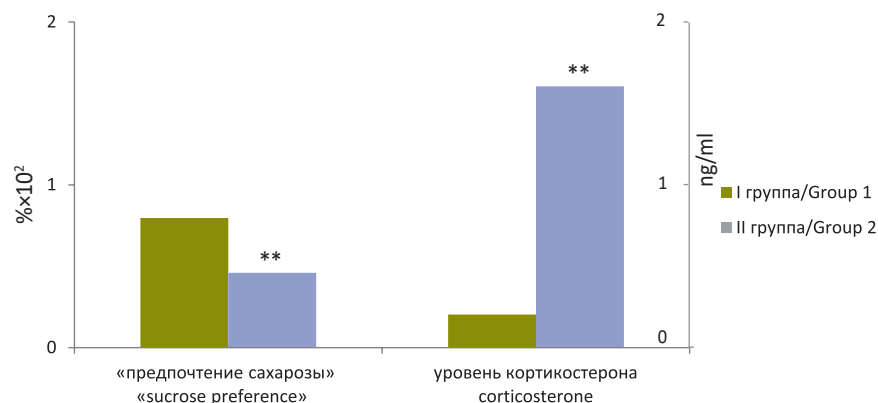


Рис. 4 Уровень кортикостерона в крови и предпочтения сахарозы у контрольных и экспериментальных животных после моделирования депрессии. ** – $p < 0,01$ при сравнении с контрольной группой

Fig. 4 Serum corticosterone and sucrose preference level in experimental and control animals after depression modelling. ** – $p < 0.01$ compared with a control group

ками со светлой цитоплазмой нередко встречались аденоциты с более тёмной цитоплазмой. Клетки сетчатой зоны были меньше по размерам и отличались большей степенью эозинофилии цитоплазмы, которая резко контрастировала с клетками со слабо базофильной цитоплазмой в мозговом веществе надпочечника. У животных экспериментальной группы клубочковая и сетчатая зоны мало отличались от контрольной группы, в то время как пучковая зона была гиперплазирована, клетки её были крупнее по размерам, пенистость цитоплазмы была значительно более выражена, наличие аденоцитов с тёмной цитоплазмой было не характерно. Относительный объём пучковой зоны увеличивался, главным образом, за счёт ретикулярной зоны (рис. 5b).

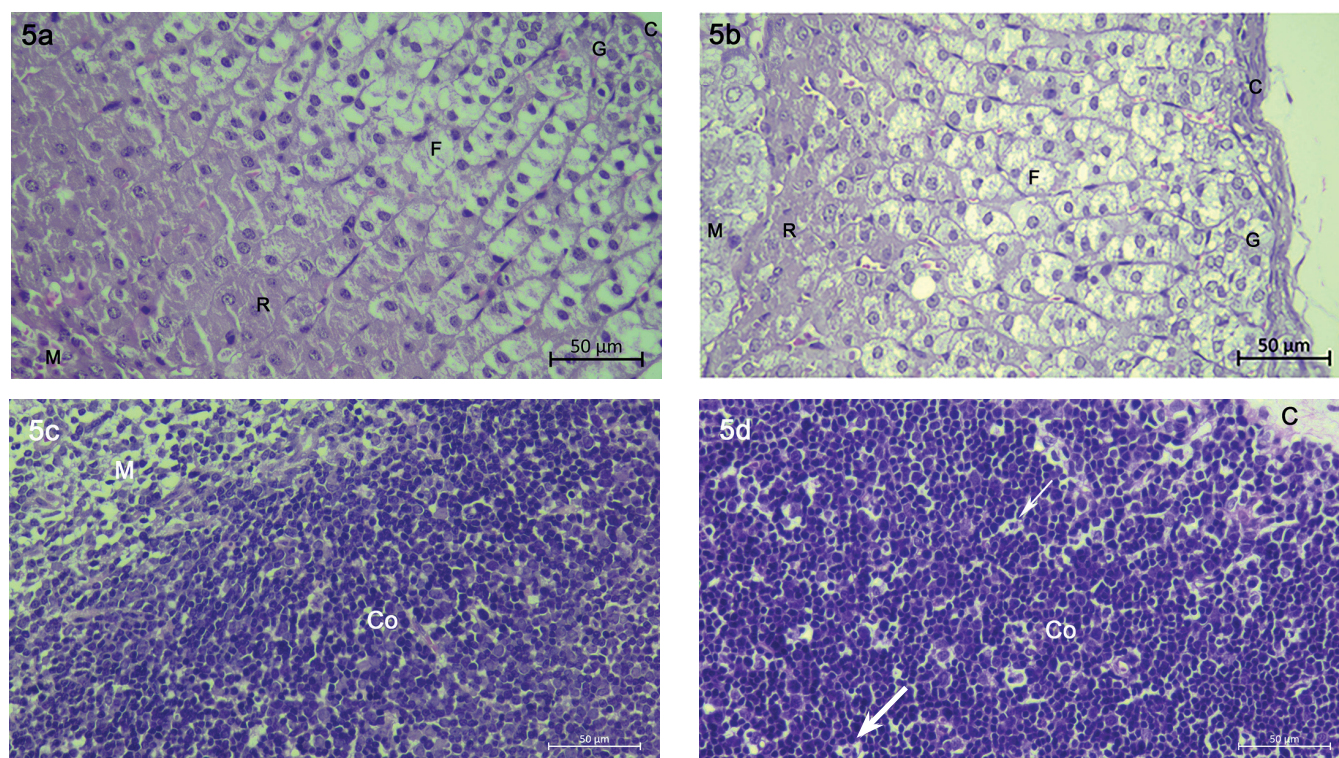
На препаратах тимуса у контрольной группы имело место отчётливое преобладание коркового слоя над мозговым, граница между слоями чётко контурировалась (рис. 5c). Кортиковое ве-

щество было плотно упаковано тимocyтами; между ними, эпителиальные клетки были идентифицированы у капсулы, глубоко в кортексе и на границе с мозговым веществом. Тингивные макрофаги были редки по всему кортексу. Несколько тельца Хассалла были обнаружены в мозговом веществе; в целом, его клетчатость была ниже, чем в кортексе; эпителиальные клетки были идентифицированы на границе с кортексом и глубже в мозговом веществе.

Микроморфология тимуса экспериментальных животных revealed значительные изменения по сравнению с контрольными мышами (рис. 5d): толщина кортекса была уменьшена, клетчатость кортекса была снижена, и он приобрел «звездчатый» вид из-за увеличения числа макрофагов с инстированными апоптотическими тельцами. Граница между кортексом и мозговым веществом в дольках выглядела менее выраженной, и количество тельца Хассалла увеличилось.

Рис. 5 Надпочечник (5a, b) и тимус (5c, d) контрольных (5a, c) и экспериментальных (5b, d) животных. Микрофотографии. Окраска гематоксилином-эозином. Объектив ×40. C – капсула, G – зона glomerulosa, F – зона fasciculata, R – зона reticularis, M – мозговое вещество, Co – cortex, стрелки – макрофаги, захватившие апоптотические тельца

Fig. 5 Adrenal gland (5a, b) and thymus (5c, d) of the control (5a, c) and experimental (5b, d) animals. Micrographs. Hematoxylin-eosin staining. ×40. C – capsule, G – zona glomerulosa, F – zona fasciculata, R – zona reticularis, M – medulla, Co – cortex, arrows – tingible body macrophages



щество было плотно заполнено лимфоидными клетками, между которыми определялись эпителиальные клетки около капсулы, в толще коркового вещества и на границе с мозговым веществом. Количество макрофагов по всему корковому веществу не велико, картина «звёздного неба» не выражена. В мозговом веществе определялись немногочисленные тельца Гассалья, в целом клеточность его была ниже, чем в корковом веществе, эпителиальные клетки в нём определялись на границе с корковым веществом и в толще мозгового вещества. Микроморфология тимуса животных экспериментальной группы имела существенные отличия (рис. 5d): уменьшение толщины коркового вещества, снижение в нём клеточности и появление картины «звёздного неба» за счёт увеличения количества макрофагов, захвативших апоптозные тельца. Имело место некоторое размывание границы между корковым и мозговым веществом, увеличение частоты встречаемости телец Гассалья.

Данные имидж анализа гистологических препаратов представлены на рис. 6, 7.

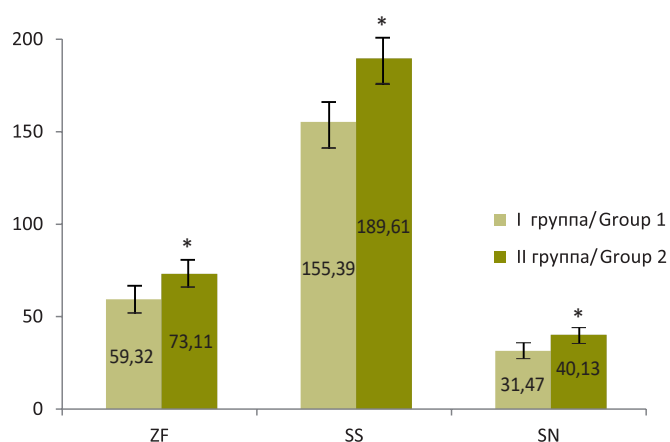
Как следует из рис. 6, у животных экспериментальной группы имело место значимое увеличение удельной площади пучковой зоны коры надпочечников ($p < 0,05$), а также площади спонгиозитов и их ядер ($p < 0,05$), по сравнению с контрольной группой. В тимусе у экспериментальных животных отмечалось значимо меньшее корково-мозговое соотношение и большая удельная площадь макрофагов, захвативших апоптозные тельца ($p < 0,05$) (рис. 7).

ОБСУЖДЕНИЕ

Сложные корреляции между состоянием ГГНО и поведенческими реакциями пока ещё остаются малопонятными [19]. Проведённое исследование показало, что применённая резерпиновая модель [15] вызывала у экспериментальных животных значительные изменения поведенческих реакций, свидетельствующие о развитии у них депрессии: значимое угнетение как горизонтальной, так и вертикальной активности, учащение мочеиспускания и дефекации, снижение предпочтения сахарозы и удлинение неактивной фазы в тесте форсированного плавания. Эти измене-

Рис. 6 Удельная площадь сетчатой зоны (ZF, %), площадь спонгиозитов (SS, мкм²) и их ядер (SN, мкм²) в коре надпочечников экспериментальных и контрольных животных, $M \pm m$. * – $p < 0,05$ при сравнении с контрольной группой

Fig. 6 Volume density of the zona fasciculata (ZF, %), area of spongiocytes (SS, mcm²), and their nuclei (SN, mcm²) in the adrenal cortex of the experimental and control animals, $M \pm m$. * – $p < 0.05$ compared with a control group



The image analysis results of histological slides of the adrenal gland and the thymus are shown in Fig. 6, 7.

As follows from Fig. 6, the animals of the experimental group had a significantly larger volume density of the zona fasciculata in the adrenal cortex ($p < 0.05$), as well as the area of spongiocytes and their nuclei ($p < 0.05$), compared with the control group. The thymus of experimental animals had a significantly lower cortico-medullary ratio and a larger volume density of tingible body macrophages ($p < 0.05$) (Fig. 7).

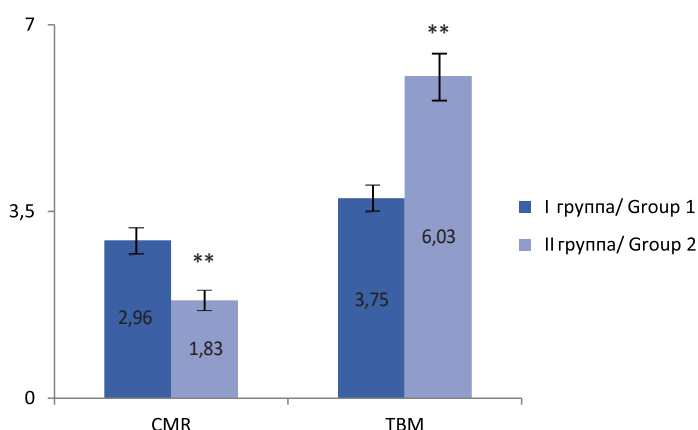
DISCUSSION

The complicated correlations between the level of the HPAA and the behavioral reactions remain poorly understood [19]. Our study showed that the reserpine model of depression [15] caused significant behavioral changes in the experimental animals, indicating the development of depression, such as significant inhibition of horizontal and vertical activities, increased frequency of urination and defecation, decreased preference for sucrose and the extended passive phase in a forced swimming test. At the same time, the microscopic picture of the thymus indicated the development of immunosuppressive changes in the body (decreased cortico-medullary ratio in the thymus, decreased cellularity of the thymic cortex, increased volume density of tingible body macrophages with ingested apoptotic bodies). Similar changes have been described in the immune and endocrine systems of experimental animals under chronic stress [20, 21], which leads to activation of the HPAA and is accompanied by the development of a depressive type of behavior. However, our target was to find out how depression not associated with stress history affects the HPAA.

Though numerous papers demonstrate that depression-associated activation of HPAA, none of these works provide evidence that depression in the presented context is not associated with a history of stress. At the same time, in our study, the applied reserpine model of depression is free from stress exposure, as before the start of the experiment, the animals underwent habituation. Regarding the effect of the injections themselves, the

Рис. 7 Корково-мозговое отношение (CMR) и удельная площадь макрофагов, захвативших апоптозные тельца (TBM, %) тимуса экспериментальных и контрольных животных, $M \pm m$. ** – $p < 0,01$ при сравнении с контрольной группой

Fig. 7 Cortico-medullary ratio (CMR) and volume density (%) of tingible body macrophages (TBM) in the thymus of the experimental and control animals, $M \pm m$. ** – $p < 0.01$ compared with a control group



ния развивались на фоне гиперплазии коры надпочечников (значимое увеличение удельной площади пучковой зоны, площади спонгиозитов и их ядер), а также повышения концентрации кортикостерона в крови.

Одновременно в тимусе наблюдались микроскопические изменения, свидетельствующие об иммуносупрессивных сдвигах в организме (уменьшение кортико-мозгового соотношения в тимусе, снижение клеточности коркового вещества, повышение удельной площади макрофагов, захвативших апоптозные тельца). Подобные изменения описаны в иммунной и эндокринной системах экспериментальных животных при хроническом стрессе [20, 21], который приводит к активации ГГНС и сопровождается изменением поведения по депрессивному типу. Однако перед нами стояла другая задача: выяснить, как влияет на ГГНС сама депрессия, развитие которой не связано со стрессом. В литературе имеются работы, демонстрирующие, что при депрессии происходит активация ГГНО, однако ни в одной из этих работ не приведено доказательств того, что возникновение депрессии в представленном контексте не связано со перенесённым стрессом. При этом в нашем исследовании использованная модель депрессии (хроническое подкожное введение резерпина) отчётливо свободна от стрессорных воздействий: перед началом эксперимента животные проходили габитацию, что же касается влияния самих инъекций, то контрольные животные, не имеющие никаких признаков депрессии, с той же, что и экспериментальные животные, кратностью получали вместо резерпина инъекции физиологического раствора.

В ряде работ продемонстрировано влияние на ГГНС депрессии, моделированной введением липополисахарида (ЛПС), в частности, недавнее исследование липополисахаридной модели депрессии и методов её коррекции анталармином – антагонистом CRHR1 [22]. В данной модели, как и в нашем исследовании, у животных формировались поведенческие реакции депрессивного типа, повышался уровень кортикостерона, которые нивелировались приёмом анталармина. Однако само введение ЛПС считается стрессорным воздействием [23] и вызывает иммунные сдвиги, которые накладываются на иммуносупрессивные изменения, вызываемые активацией ГГНО, в связи с чем данная модель не позволяет в полной мере оценить нейроиммуноэндокринные последствия депрессии, которые были бы не связаны с действием стрессоров или иммуномодуляторов. Недавние исследования [24] показали одно из возможных звеньев развития депрессии – увеличение экспрессии PSD-93 у ко-локализованных КРФ-нейронов, которое сопровождается повышением уровня кортизола и которое описано у больных с депрессивными расстройствами. В липополисахаридной модели депрессии у мышей, с нокаутном PSD-93 симптомы депрессии уменьшались. Однако данное исследование не отвечает на главный вопрос: что может служить причиной повышенной экспрессии PSD-93 у больных с депрессивными расстройствами, является ли депрессия у этих больных стресс-ассоциированной?

Наши результаты согласуются с данными авторов, которые обнаружили активацию ГГНС при депрессии, вызванной гипотиреозом, развившемся в результате гемитиреоидной электрокатетеризации. В данном исследовании у экспериментальных животных отмечались и поведенческие изменения (в тестах форсированного плавания и подвешивания за хвост), характерные для депрессии (кроме предпочтения сахарозы), и выраженная гипертрофия надпочечников с обнаружением большого количества липидных вакуолей в сетчатой зоне их коры [25]. Однако в данной модели депрессии, в противоположность нашей модели, стрессорный компонент не может быть полностью исключён.

control animals also received injections of normal saline instead of reserpine but did not have any signs of depression. Several studies have demonstrated the effect of depression modeled by the administration of lipopolysaccharide (LPS) on the HPAA, in particular a recent study of the LPS model of depression and its correction with antalarmin, a CRHR1 antagonist [22]. In this model, as in our study, the experimental animals showed increased corticosterone levels and developed behavioral reactions of depressive type, which subsided after treatment with antalarmin. However, the administration of LPS is considered stressor [23]. It causes immune disorders that are superimposed on the immunosuppressive changes caused by HPAA activation. Therefore, this model does not allow due evaluation of the neuroimmunoenocrine consequences of depression not associated with stressors or immunomodulators. Recent studies [24] have shown one of the possible links in the development of depression – an increase in the expression of PSD-93 in co-localized CRF-neurons, which is accompanied by a surge of cortisol and has been found in patients with depressive disorders. In an LPS mouse model of depression, PSD-93 knockdown reduced depressive symptoms. However, this study does not answer the central question: what factors can cause increased expression of PSD-93 in patients with depressive disorders, and whether depression in these patients is stress-related?

Our results are consistent with the data of the authors [25], who found activation of the HPAA in depression caused by hypothyroidism, which developed as a result of hemi-thyroid electrocauterization. In this study, experimental animals showed behavioral changes (in forced swimming and tail suspension tests) characteristic of depression (except for sucrose preference), and pronounced hypertrophy of the adrenal glands with the detection of many lipid vacuoles in the reticular zone of their cortex. However, in this model of depression, contrary to our model, the stress exposure cannot be completely excluded.

In a healthy body, the immune and neuroendocrine systems function in a coordinated manner, and their dysregulation may contribute to the pathophysiology of depression, as the latter is accompanied by neuroinflammation and increased cortisol levels [20]. However, other authors conclude that serum cortisol values are not always an adequate marker of depression level, and even if the use of antidepressants decreases cortisol values, it does not necessarily correspond to the level of clinical effect of the applied drugs [26]. That is why we undertook a parallel study of the microscopic structure of the adrenal cortex, the results of which also showed adrenal hyperplasia, accompanied by immunosuppressive changes in the thymus, which correlated with the results of behavioral tests..

Regarding the microscopic structure of the adrenal cortex in mice, the traditional understanding of its zonal pattern has recently been revised. According to earlier studies, in the cortex of mice, like in humans and other primates, there are three zones: *zonae glomerulosa*, *fasciculata*, and *reticularis* [27, 28]. However, in more recent works, including the papers of the same authors, it was shown that the *zona reticularis* is not present in rodents, which do not develop the “*adrenarche*” phenomenon, and therefore it is proposed to distinguish either two zones (*zonae glomerulosa* and *fasciculata*), or three of them (*zona glomerulosa*, *zona fasciculata externa* and *interna*). This conclusion was made based on molecular biological studies showing that CYP17A1 is not expressed by adrenal cortical cells in mice and rats [29, 30]. In our study, we adhered to the traditional understanding of the tri-zon-

В здоровом организме иммунная и нейроэндокринная системы функционируют скоординированно, и их дисрегуляция может вносить вклад в патофизиологию депрессии, поскольку последняя сопровождается нейровоспалением и повышением уровня кортизола [20]. Вместе с тем, другие авторы приходят к выводу, что уровень кортизола не всегда является адекватным маркером уровня депрессии, и даже, если применение антидепрессантов приводит к снижению уровня кортизола, оно не обязательно соответствует уровню клинического эффекта от применённых препаратов [26]. Именно поэтому мы предприняли параллельное исследование микроскопического строения коры надпочечников, результаты которого также показали наличие гиперплазии коры надпочечников, сопровождающейся иммуносупрессивными изменениями в тимусе, которые коррелировали с результатами поведенческих тестов.

В отношении микроскопического строения коры надпочечников у мышей, традиционные представления о её зональном паттерне в последнее время подвергаются пересмотру. Согласно более ранним исследованиям в корковом веществе мышей, как и человека и других приматов, имеются три зоны: клубочковая, пучковая и сетчатая [27, 28]. Однако, в более поздних работах, в том числе тех же авторов показано, что сетчатая зона у грызунов отсутствует, так же как отсутствует феномен «адренархе», в связи с чем предлагается выделять либо две зоны (клубочковая и пучковая), либо три (клубочковая, наружная и внутренняя пучковая). Данный вывод сделан на основании данных молекулярно-биологических исследований, показавших, что CYP17A1 не экспрессируется клетками коры надпочечников у мышей и крыс [29, 30]. В своём исследовании мы придерживались традиционных представлений о трёхзональном строении коры надпочечников у мышей; результаты его показали, что гиперплазия коры надпочечников при моделировании депрессии происходит за счёт именно пучковой зоны (или наружной пучковой зоны по предложенной новой классификации), в то время как удельная площадь сетчатой зоны (или внутренней пучковой зоны), напротив, относительно снижается, т.е. изменения в «наружной» и «внутренней» пучковых зонах являются разнонаправленными, в связи с чем объединение их в одну зону не представляется целесообразным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Моделированная депрессия у мышей, не связанная со стрессом, глубина которой оценивалась поведенческими реакциями, вызывала активацию ГГНС, проявляющуюся повышением уровня кортикостерона, гиперплазией сетчатой зоны коры надпочечников, гипертрофией спонгиозитов и их ядер в ней, а также микроскопическими изменениями в тимусе, свидетельствующих об ассоциированной иммуносупрессии. Таким образом, исследование показало, что наряду с хорошо известным феноменом развития депрессии на фоне хронического стресс-ассоциированного повышения активности ГГНС, имеет место обратный механизм, приводящий к активации ГГНС при развитии депрессии, не связанной со стрессом, который необходимо учитывать при выработке новых подходов к лечению депрессии.

al structure of the adrenal cortex in mice; its results showed that hyperplasia of the adrenal cortex in modeled depression occurs at the expense of the traditional zona fasciculata (or external zona fasciculata according to the newly proposed classification). In contrast, the volume density of the zona reticularis (or internal zona fasciculata), on the contrary, is relatively decreased, i.e. the changes in the “outer” and “inner” zona fasciculata are multidirectional, and therefore combining them into one zone does not seem appropriate.

CONCLUSION

Modeled depression in mice, not associated with stress, the depth of which was assessed by behavioral reactions, caused activation of the HPAA, manifested by an increase in the corticosterone level, hyperplasia of the zona reticularis of the adrenal cortex, hypertrophy of its spongiocytes and their nuclei, as well as microscopic changes in the thymus, indicating associated immunosuppression. Thus, the study showed that, along with the well-known phenomenon of the development of depression against the background of the chronic stress-associated increase in HPAA activity, there is an inverse mechanism leading to HPAA activation during the development of depression not associated with stress, which must be taken into account when developing new approaches to the treatment of depression.

ЛИТЕРАТУРА

REFERENCES

- WHO, depression: World Health Organization. Available from 2023. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>
- Liu Q, He H, Yang J, Feng X, Zhao F, Lyu J. Changes in the global burden of depression from 1990 to 2017: Findings from the Global Burden of Disease study. *J Psychiatr Res*. 2020;126:134-40. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2019.08.002>
- Institute of Health Metrics and Evaluation. Global Health Data Exchange (GHDx). <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/depression>.
- Collaborators C1MD. Global prevalence and burden of depressive and anxiety disorders in 204 countries and territories in 2020 due to the COVID-19 pandemic. *Lancet*. 2021;398:1700-12. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02143-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02143-7)
- Zhu C, Zhang T, Li Q, Chen X, Wang K. Depression and anxiety during the COVID-19 pandemic: Epidemiology, mechanism, and treatment. *Neurosci Bull*. 2023;39:675-84. <https://doi.org/10.1007/s12264-022-00970-2>
- Gavzan H, Araghi A, Marzban Abbasabadi B, Talebpour N, Golshahi H. Antidepressant effects of a Persian herbal formula on mice with chronic unpredictable mild stress. *Avicenna J Phytomed*. 2023;13:562-74. <https://doi.org/10.22038/AJP.2023.22191>
- Grace AA. Dysregulation of the dopamine system in the pathophysiology of schizophrenia and depression. *Nat Rev Neurosci*. 2016;17:524-32. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.57>
- Gandy K, Kim S, Sharp C, Dindo L, Maletic-Savatic M, Calarge C. Pattern separation: A potential marker of impaired hippocampal adult neurogenesis in major depressive disorder. *Front Neurosci*. 2017;11:1-9. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00571>
- Strawbridge R, Young AH, Cleare AJ. Biomarkers for depression: Recent insights, current challenges and future prospects. *Neuropsychiatr Dis Treat*. 2017;13:1245-62. <https://doi.org/10.2147/NDT.S114542>
- Jesulola E, Micalos P, Baguley JJ. Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model – are we there yet? *Behav Brain Res*. 2018;341:79-90. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.12.025>
- Gupta S, Mukherjee A, Biswas S, Bose S, Nath S, Das HN. Evaluation of endocrine parameters as predictor of major depressive disorder. *Indian J Psychol Med*. 2017;39:766-9. https://doi.org/10.4103/IJPSYM.IJPSYM_120_17
- Szpunar MJ, Parry BL. A systematic review of cortisol, thyroid-stimulating hormone, and prolactin in peripartum women with major depression. *Arch Womens Ment Health*. 2018;21:149-61. <https://doi.org/10.1007/s00737-017-0787-9>
- Leistner C, Menke A. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and stress. *Handb Clin Neurol*. 2020;175:55-64. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64123-6.00004-7>
- Busch JR, Lundemose SB, Lynnerup N, Jacobsen C, Jørgensen MB, Banner J. Enlargement of the human adrenal zona fasciculata and chronic psychiatric illness – an autopsy-based study. *Stress*. 2020;23:69-76. <https://doi.org/10.1080/10253890.2019.1641485>
- Ikram H, Haleem DJ. Repeated treatment with reserpine as a progressive animal model of depression. *Pak J Pharm Sci*. 2017;30:897-902.
- Kurakhmaeva KB, Djindjhashvili IA, Petrov VE, Balabanyan VU, Voronina TA, Trofimov SS, et al. Brain targeting of nerve growth factor using poly(butyl cyanoacrylate) nanoparticles. *J Drug Target*. 2009;17:564-74. <https://doi.org/10.1080/10611860903112842>
- Lam VYY, Raineki C, Wang LY, Chiu M, Lee G, Ellis L, et al. Role of corticosterone in anxiety- and depressive-like behavior and HPA regulation following prenatal alcohol exposure. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019;90:1-15. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2018.10.008>
- Yankelevitch-Yahav R, Franko M, Huly A, Doron R. The forced swim test as a model of depressive-like behavior. *J Vis Exp*. 2015;97:52587. <https://doi.org/10.3791/52587>
- Armario A, Belda X, Gagliano H, Fuentes S, Molina P, Serrano S, et al. Differential hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress among rat strains: Methodological considerations and relevance for neuropsychiatric research. *Curr Neuropharmacol*. 2023;21:1906-23. <https://doi.org/10.2174/1570159X21666221129102852>
- Cheiran Pereira G, Piton E, Moreira Dos Santos B, Ramanzini LG, Muniz Camargo LF, et al. Microglia and HPA axis in depression: An overview of participation and relationship. *World J Biol Psychiatry*. 2022;23:165-82. <https://doi.org/10.1080/15622975.2021.1939154>
- Smaniotto TÂ, Casaril AM, de Andrade Lourenço D, Sousa FS, Seixas FK, Collares T, et al. Intranasal administration of interleukin-4 ameliorate depression-like behavior and biochemical alterations in mouse submitted to the chronic unpredictable mild stress: Modulation of neuroinflammation and oxidative stress. *Psychopharmacology (Berl)*. 2023;240:935-50. <https://doi.org/10.1007/s00213-023-06336-4>
- Sun J, Qiu L, Zhang H, Zhou Z, Ju L, Yang J. CRHR1 antagonist alleviates LPS-induced depression-like behaviour in mice. *BMC Psychiatry*. 2023;23:17. <https://doi.org/10.1186/s12888-023-04519-z>
- Zaychenko MI, Filenko P, Sidorina V, Grigoryan GA. Ostryi i khronicheskiy lipopolisakharidnyy stress region-spetsifichno izmenyaet ekspressiyu genov provospalitel'nykh tsitoki-nov v mozge krysa i vliyayet na obucheniye i pamyat' v vodnom labirinte Morrisa [Acute and chronic lipopolysaccharide-induced stress changes expression of proinflammatory cytokine genes in the rat brain region-specifically and affects learning and memory]. *Biokhimiya*. 2023;88:642-55. <https://doi.org/10.1134/S0006297923040089>
- Qin XY, Shan QH, Fang H, Wang Y, Chen P, Xiong ZQ, et al. PSD-93 up-regulates the synaptic activity of corticotropin-releasing hormone neurons in the paraventricular nucleus in depression. *Acta Neuropathol*. 2021;142:1045-64. <https://doi.org/10.1007/s00401-021-02371-7>
- Ge JF, Peng YY, Qi CC, Chen FH, Zhou JN. Depression-like behavior in subclinical hypothyroidism rat induced by hemi-thyroid electrocauterization. *Endocrine*. 2014;45:430-8. <https://doi.org/10.1007/s12020-013-0001-4>
- Nandam LS, Brazel M, Zhou M, Jhaveri DJ. Cortisol and major depressive disorder-translating findings from humans to animal models and back. *Front Psychiatry*. 2020;10:974. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00974>
- Fuchs LFP, Veras MM, Saldiva PHN, Sasso GRDS, Carvalho KC, Simões MJ, et al. Ambient levels of concentrated PM2.5 affects cell kinetics in adrenal glands: An experimental study in mice. *Gynecol Endocrinol*. 2017;33:490-5. <https://doi.org/10.1080/09513590.2017.1291617>
- Dumontet T, Sahut-Barnola I, Septier A, Montanier N, Ploton I, Roucher-Boulez F, et al. Adrenocortical development: Lessons from mouse models. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2018;79:95-7. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2018.03.014>
- Lee BY, Jo JB, Choi D, Lee SH, Cheon YP. A chronic-low-dose exposing of DEHP with OECD TG 443 altered the histological characteristics and steroidogenic gene expression of adrenal gland in female mice. *Dev Reprod*. 2021;25:257-68. <https://doi.org/10.12717/DR.2021.25.4.257>
- Dumontet T, Martinez A. Adrenal androgens, adrenarche, and zona reticularis: A human affair? *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2021;528:111239. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2021.111239>



СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Нур Амира Дияна бинти Разлан, аспирант кафедры фундаментальных медицинских наук, факультет медицины и здравоохранения Университета Малайзии Саравак
 ORCID ID: 0009-0001-6515-7098
 E-mail: amirah6497@gmail.com



AUTHORS' INFORMATION

Nur Amirah Diyana binti Razlan, Postgraduate Student, Department of Basic Medical Sciences, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Malaysia Sarawak
 ORCID ID: 0009-0001-6515-7098
 E-mail: amirah6497@gmail.com

Капитонова Марина Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры фундаментальных медицинских наук, факультет медицины и здравоохранения Университета Малайзии Саравак

Researcher ID: Y-6429-2018

Scopus ID: 8854275100

ORCID ID: 0000-0001-6055-3123

E-mail: kmarina@unimas.my

Аляутдин Ренад Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры фармакологии, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова; Начальник управления экспертизы безопасности лекарственных средств, Научный центр экспертизы средств медицинского применения

Researcher ID: L-9261-2014

Scopus ID: 6701792451

ORCID ID: 0000-0002-4647-977X

E-mail: alyautdin@mail.ru

Талип Сайфул Бахри, кандидат медицинских наук, старший преподаватель анатомии, факультет медицины и здравоохранения Университета Малайзии Саравак

Scopus ID: 57191838596

ORCID ID: 0000-0001-9470-4559

E-mail: tsbahri@unimas.my

Рамли Норхида, кандидат медицинских наук, преподаватель анатомии, факультет медицины и здравоохранения Университета Малайзии Саравак

Scopus ID: 56893285800

ORCID ID: 0000-0002-8764-5340

E-mail: rnorhida@unimas.my

Нве Тин Мое, доктор медицинских наук, доцент анатомии, Королевский колледж медицины, Университет ЮниКЛ

Scopus ID: 8854275100

ORCID ID: 0000-0001-6055-3123

E-mail: mntin@unimas.my

Информация об источнике поддержки в виде грантов, оборудования, лекарственных препаратов

Исследование поддержано специальным грантом Университета Малайзии Саравак F05/SpTDG/1763/2018. Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей лекарственных препаратов и медицинского оборудования авторы не получали

✉ АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Талип Сайфул Бахри

кандидат медицинских наук, старший преподаватель анатомии, факультет медицины и здравоохранения Университета Малайзии Саравак

94300, Малайзия, Кота Самаракан

Тел.: +60 (198) 279003

E-mail: tsbahri@unimas.my

Kapitonova Marina, MD, PhD, Professor, Professor of Anatomy, Department of Basic Medical Sciences, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Malaysia Sarawak

Researcher ID: Y-6429-2018

Scopus ID: 8854275100

ORCID ID: 0000-0001-6055-3123

E-mail: kmarina@unimas.my

Alyautdin Renad Nikolaevich, MD, PhD, Professor of the Pharmacology Department, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; Head, Scientific Center for Expert Evaluation of Medicinal Products

Researcher ID: L-9261-2014

Scopus ID: 6701792451

ORCID ID: 0000-0002-4647-977X

E-mail: alyautdin@mail.ru

Talip Saiful Bahri, MD, Senior Lecturer, Department of Basic Medical Sciences, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Malaysia Sarawak

Scopus ID: 57191838596

ORCID ID: 0000-0001-9470-4559

E-mail: tsbahri@unimas.my

Ramli Norhida, MD, Senior Lecturer, Department of Basic Medical Sciences, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Malaysia Sarawak

Scopus ID: 56893285800

ORCID ID: 0000-0002-8764-5340

E-mail: rnorhida@unimas.my

Nwe Tin Moe, MD, PhD, Associate Professor, Royal College of Medicine, Faculty UniKL

Scopus ID: 8854275100

ORCID ID: 0000-0001-6055-3123

E-mail: mntin@unimas.my

Information about support in the form of grants, equipment, medications

The study is supported by the special top-down grant of Universiti Malaysia Sarawak F05/SpTDG/1763/2018. The authors did not receive financial support from manufacturers of medicines and medical equipment

✉ ADDRESS FOR CORRESPONDENCE:

Talip Saiful Bahri, MD

Senior Lecturer, Department of Basic Medical Sciences, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universiti Malaysia Sarawak

Kota Samarahan 94300, Malaysia

Tel.: +60 (198) 279003

E-mail: tsbahri@unimas.my

ВКЛАД АВТОРОВ

Разработка концепции и дизайна исследования: КМЮ, АРН

Сбор материала: РНАД

Статистическая обработка данных: РНАД

Анализ полученных данных: КМЮ, АРН, ТСБ, РН, НТМ

Подготовка текста: РНАД

Редактирование: КМЮ, АРН, ТСБ, РН, НТМ

Общая ответственность: КМЮ, АРН

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conception and design: KM, ARN

Data collection: RNAD

Statistical analysis: RNAD

Analysis and interpretation: KM, ARN, TSB, RN, NTM

Writing the article: RNAD

Critical revision of the article: KM, ARN, TSB, RN, NTM

Overall responsibility: KM, ARN

Поступила 11.09.23

Принята в печать 29.02.24

Submitted 11.09.23

Accepted 29.02.24