

УДК 612.822.3

ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК В ЛИКВОРЕ КРЫС ПРИ СТРЕССОРНОЙ НАГРУЗКЕ

^{1,3}Григорчук О.С., ²Глебова К.В., ²Вейко Н.Н., ^{1,3}Умрюхин П.Е.

¹Первый московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова;

²ФГБУ «Медико-генетический научный центр РАМН»;

³НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина РАМН, Москва, e-mail: o.grigorchuk@nphys.ru

Работа посвящена исследованию уровня внеклеточной ДНК (вкДНК) в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) крыс с различной эмоциональной резистентностью в норме и условиях иммобилизационной стрессорной нагрузки. В контрольной серии экспериментов в группе устойчивых к стрессу животных наблюдалась тенденция к большему уровню вкДНК по сравнению с предрасположенными к стрессу и амбивалентными особями, однако статистически значимых различий между группами обнаружено не было. Все исследованные животные статистически достоверно разделялись на группы с высоким и низким общим количеством ДНК в ЦСЖ. Доля крыс с низким количеством вкДНК в ЦСЖ среди предрасположенных и устойчивых к стрессу животных составила 70 и 33% соответственно. После эмоционального стресса (ЭС) в группах устойчивых и предрасположенных к стрессу животных нами выявлена обратная корреляционная зависимость между изменением объема аликвот отбираемого ликвора и изменением в нем концентрации вкДНК. Полученные нами результаты свидетельствуют о жесткой регуляции уровня вкДНК в ЦСЖ и позволяют предположить, что выявленные нами закономерности являются частью механизма адаптации мозга к стрессирующим воздействиям.

Ключевые слова: внеклеточная ДНК, цереброспинальная жидкость, эмоциональный стресс

CELL-FREE DNA IN CEREBROSPINAL FLUID UNDER EMOTIONAL STRESS LOAD

^{1,3}Grigorchuk O.S., ²Glebova K.V., ²Veiko N.N., ^{1,3}Umriukhin P.E.

¹Sechenov First Moscow State Medical University;

²P.K. Anokhin institute of normal physiology of the Russian Academy of Medical Sciences;

³Research Centre for Medical Genetics of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, e-mail: o.grigorchuk@nphys.ru

The levels of cell-free DNA (cfDNA) were studied in cerebrospinal fluid (CSF) of rats with different emotionality reflected by results of open field test before and after immobilization stress. In control stress-resistant rats' group demonstrated a tendency to higher cfDNA level in comparison to stress-predisposed and ambivalent ones, but we found no statistically significant differences between the groups. All experimental animals were divided into statistically significant groups with high and low total amount of CSF cfDNA. Proportions of rats with low amount of total CSF cfDNA among stress-resistant and susceptible animals were 33 and 70%, respectively. After the emotional stress (ES) we found an inverse correlation between the changes in CSF aliquots' volume and the changes in cfDNA concentration in stable and prone to stress animals' groups. Our results indicate tight regulation of cfDNA levels in CSF and suggest that patterns we have identified are part of the mechanism of brain adaptation to stressful influences.

Keywords: cell-free DNA, cerebrospinal fluid, emotional stress.

Многочисленные исследования посвящены изучению свойств и функций внеклеточной ДНК (вкДНК), циркулирующей в крови. Было показано, что вкДНК в крови является регулятором целого ряда физиологических процессов, а также может выступать в качестве маркера различного рода заболеваний [10; 13]. Однако о вкДНК, присутствующей в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ), информации очень мало. Между тем имеющиеся на настоящий момент данные представляют значительный практический интерес, поскольку последние годы появляется все больше информации об участии вкДНК в развитии патологических процессов и о связи биологической активности вкДНК с ее молекулярными свойствами и концентрацией [9; 12]. Так, Родес и соавт. было показано, что при наличии опухолей

в нервной системе в ликворе детектируется вкДНК с опухолеспецифичными геномными изменениями, источником которой являются раковые клетки [15]. Также было показано, что в ЦСЖ пациентов с болезнью Паркинсона обнаруживается вкДНК, и ее состав и концентрация существенно отличаются от таковых вкДНК, циркулирующей в крови [1]. Известен также факт обнаружения вкДНК плода в ЦСЖ женщин в предродовой период [7], что свидетельствует о возможности существования механизмов проникновения вкДНК через гистогематические барьеры.

Ранее Коноровой И.Л. было показано, что при стрессорной нагрузке концентрация вкДНК в крови возрастает [2]. Однако вопрос о том, происходит ли в стрессовых условиях изменение концентрации вкДНК

в ЦСЖ, остается по-прежнему актуальным и открытым. **Целью данной работы** являлось исследование уровня вкДНК в ЦСЖ крыс с различной эмоциональной резистентностью в норме и условиях иммобилизационной стрессорной нагрузки.

Материалы и методы исследования

В работе были использованы 22 самца крыс линии Вистар массой 200–220 г. Исследования проводили в соответствии с международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». Индивидуальную эмоциональную реактивность крыс определяли в тесте «открытое поле» с использованием компьютерной программы регистрации параметров двигательной активности «Open Field Sequential Test V.2» и расчетом индекса двигательной активности (ИА) как отношения суммы пересеченных периферических и центральных секторов к сумме латентных периодов первого движения и выхода в центр. К прогностически устойчивым к стрессу (активным) особям были отнесены 9 животных со значением ИА менее 0,8, к предрасположенным (пассивным) – 10 крыс с ИА более 1,5 [3]. Была также определена группа из 3 амбивалентных крыс со средними значениями коэффициента – от 0,8 до 1,5.

Забор ЦСЖ осуществляли под анестезией хлоралгидратом из большой цистерны головного мозга двукратно с интервалом в 10 дней по ранее разработанной методике [4]. При этом вторую пункцию проводили после эмоционального стресса (ЭС), индуцированного иммобилизацией крыс на плоской платформе за четыре конечности в течение 2,5 ч

сов. Полученные образцы ликвора быстро замораживали и хранили при -20°C .

ЦСЖ доводили физиологическим раствором до объема 400 мкл, а затем проводили выделение вкДНК фенольным методом, как было описано ранее [1]. Концентрацию вкДНК определяли на флуориметре Enspire™ 2300 (Perkin Elmer) по флуоресценции Picogreen (Invitrogen, США) при длине волн возбуждения 480 нм и эмиссии 520 нм.

Статистический анализ полученных данных осуществляли с помощью программного пакета Statistica 6.0. Для проверки гипотезы о различии независимых выборок использовали *U*-тест Манна–Уитни. Результаты представляли в виде медианы значений и межквартильного интервала Ме [25%; 75%]. Для исследования связи признаков использовали непараметрический анализ по Спирмену.

Результаты исследования и их обсуждение

Медианы концентраций вкДНК в ликворе предрасположенных, устойчивых к стрессу и амбивалентных животных в норме составили 27, 68 и 20 нг/мл соответственно (табл. 1). Несмотря на то, что нами не было обнаружено статистически значимых различий между группами, в группе устойчивых к стрессу животных наблюдалась тенденция к большему уровню вкДНК по сравнению с остальными двумя. Объем ликвора, который в норме удавалось отобрать, был примерно одинаков для всех групп животных.

Таблица 1

Уровень вкДНК и объем ликвора в большой цистерне мозга у крыс с различной эмоциональной резистентностью в норме и ЭС

	Группы животных					
	Предрасположенные к стрессу $n = 10$		Устойчивые к стрессу $n = 9$		Амбивалентные $n = 3$	
	контроль	стресс	контроль	стресс	контроль	стресс
Концентрация вкДНК, нг/мл	27 [23;56]	32 [24;73]	68 [25;80]	46 [28;60]	20 [20;22]	23 [23;26]
Объем ЦСЖ, мкл	86 [81;90]	86 [81;87]	88 [76;89]	84 [78;139]	93 [93;107]	91 [74;100]
Общее количество ДНК в пробе, нг	2,1 [2.0;6.3]	2,7 [2.0;6.4]	6,1 [2.2;6.5]	6,2 [2.1;6.8]	2,1 [1.9;2.1]	2,1 [1.9;2.3]

Статистический анализ концентраций вкДНК в ликворе по группам после эмоционального стресса показал отсутствие различий между группами устойчивых и предрасположенных к стрессу животных. Однако медианы концентраций вкДНК в ликворе предрасположенных, устойчивых к стрессу и амбивалентных животных после иммобилизационного стресса составили 32, 46 и 23 нг/мл соответственно. Как следует из оценки соответствующих верхних границ межквартильных интервалов, после ЭС концентрация вкДНК в ЦСЖ устойчивых к стрессу животных демонстрировала тенденцию к снижению, а у предрасположенных – наоборот, к повышению.

После стрессорной нагрузки изменения содержания вкДНК были выявлены у 5 из 9 устойчивых к эмоциональному стрессу животных (табл. 2). При этом у 4 крыс уменьшение концентрации вкДНК сопровождалось увеличением объема аликвот отбираемого ликвора. У 5-й активной особи концентрация вкДНК увеличивалась, а объем ЦСЖ снижался. Среди пассивных животных изменения концентрации вкДНК в ЦСЖ после стрессорной нагрузки были выявлены у 6 животных из 10: у четырех из них увеличение концентрации вкДНК сопровождалось снижением объема ликвора, у двух наблюдалось уменьшение концентрации вкДНК, причем в одном случае объем ликвора после

стресса возрастал, а в другом – не изменялся. У амбивалентных животных концентрация и объем отбираемого ликвора до и после ЭС оставалась на том же уровне.

Таблица 2

Индивидуальные данные по концентрациям вкДНК и объемам аликвот ликвора у крыс с различной эмоциональной резистентностью при ЭС

Группа животных	Номер крысы	Контроль	ЭС	И.А.	Отношение параметров при ЭС и в контроле	Общ. кол-во ДНК в пробе, нг		Эффект	
						контр	ЭС		
Устойчивые к стрессу	1	мкл	103	157		1,52	7,0	7,2	ув.V/ум.C
		нг/мл	68	46		0,68			
	2	мкл	88	171		1,94	7,0	7,5	ув.V/ум.C
		нг/мл	80	44		0,55			
	3	мкл	101	94		0,93	6,1	6,2	
		нг/мл	60	66		1,1			
	4	мкл	78	72		0,92	6,2	6,2	
		нг/мл	80	86		1,08			
	5	мкл	49	139		2,84	6,5	6,8	ув.V/ум.C
		нг/мл	133	49		0,37			
	6	мкл	45,2	84,1	3,07	1,86	5,1	2,4	ув.V/ум.C
		нг/мл	113	28		0,25			
	7	мкл	88,7	78,2	2,9	0,88	2,1	1,8	
		нг/мл	24	23		0,96			
	8	мкл	88,9	81,2	4,2	0,91	2,2	1,9	
		нг/мл	25	24		0,96			
	9	мкл	76,3	35,7	2,08	0,47	1,9	2,1	ум.V/ув.C
		нг/мл	25	60		2,4			
Предрасположенные к стрессу	10	мкл	91	89,4		0,98	6,6	6,5	
		нг/мл	72	73		1,01			
	11	мкл	113	90		0,8	6,3	6,4	ум.V/ув.C
		нг/мл	56	71		1,27			
	12	мкл	81	58,9		0,73	7,6	6,1	ум.V/ув.C
		нг/мл	94	103		1,1			
	13	мкл	51,9	73,2	0,33	1,41	2,6	1,9	ув.V/ум.C
		нг/мл	50	26		0,52			
	14	мкл	90,2	86	0,22	0,95	2,1	2,7	ум.V/ув.C
		нг/мл	23	31		1,35			
	15	мкл	103	83,7	0,53	1,03	2,0	2,7	
		нг/мл	68	32		1,28			
	16	мкл	88	86,3	0,45	0,97	2,1	2,1	
		нг/мл	80	24		1,04			
	17	мкл	101	87,4	0,46	1,03	2,0	2,0	
		нг/мл	60	23		0,96			
	18	мкл	78	80,9	0,35	1,11	2,0	1,8	ув.V/ум.C
		нг/мл	80	22		0,79			
	19	мкл	49	86,2	0,33	0,98	2,0	7,9	не изм.V/ув.C
		нг/мл	133	92		4			
	20	мкл	45,2	100		1,07	2,1	2,3	
		нг/мл	113	23		1,05			
21	мкл	88,7	90,9		0,98	1,9	2,1		
	нг/мл	24	23		1,15				
22	мкл	88,9	74,2		0,7	2,1	1,9		
	нг/мл	25	26		1,3				

Как в группе устойчивых, так и в группе предрасположенных к ЭС животных нами была выявлена обратная корреляционная зависимость между изменением объема алиquot ликвора, которые удавалось отобрать до и после ЭС, и изменением концентрации вкДНК в данных аликвотах. Коэффициент корреляции Спирмена (R) составил $-0,73$ и $-0,78$ при $p < 0,05$ для предрасположенных ($n = 10$) и устойчивых ($n = 9$) животных соответственно.

Интересно отметить, что все изучаемые животные как в норме, так и после ЭС статистически достоверно ($p < 0,005$, U -тест) разделялись на 2 группы – с повышенным $6,5$ [6;2; 7] ($n = 9$) и низким $2,1$ [2; 2,1] ($n = 13$) общим количеством вкДНК (в нг) в пробе (табл. 1 и 2). При этом в норме среди устойчивых к ЭС крыс всего 33% животных имели низкое количество вкДНК в ЦСЖ, в то время как доля таких животных среди предрасположенных к стрессу составила 70% (табл. 2). Низкое количество вкДНК в ЦСЖ было обнаружено и у всех изучаемых амбивалентных животных. После ЭС эта закономерность сохранялась. В группе устойчивых к стрессу крыс общее количество вкДНК в пробе оставалось постоянным до и после ЭС у 8-ми из 9 животных. У одной крысы наблюдалось снижение общего количества вкДНК в ЦСЖ после стресса. Среди предрасположенных к стрессу животных постоянство общего количества вкДНК было отмечено у 8 из 10 животных, а у двух крыс наблюдали прирост и снижение количества вкДНК соответственно (табл. 2).

В данной работе впервые была проведена оценка концентрации вкДНК в ЦСЖ из большой цистерны головного мозга животных с различной эмоциональной резистентностью. При стрессорных нагрузках у каждого животного могут проявляться различные реакции со стороны гормональных, биохимических и вегетативных показателей организма [6], тест открытого поля оценивает лишь вероятную резистентность особи к эмоциональным нагрузкам. Поскольку у отдельных животных могут проявляться индивидуальные варианты динамики физиологических показателей, нам представлялось важным помимо анализа животных по группам резистентности к ЭС на основе ИА также проводить оценку индивидуальных изменений исследуемых параметров у каждого животного.

Выявленная нами тенденция к большему уровню вкДНК у группы устойчивых к стрессу животных согласуется с результатами, полученными ранее при исследовании вкДНК в плазме крови крыс

с разной индивидуальной эмоциональной устойчивостью [11]. Концентрация вкДНК в плазме крови устойчивых к стрессу животных также превышала таковую у предрасположенных, но в крови это различие было выражено более явно.

Поскольку в работе [11] определение концентрации вкДНК в плазме крови крыс проводилось тем же методом, что и в данном исследовании, интересным представлялось провести сравнительную оценку концентраций вкДНК в крови и ЦСЖ в норме у крыс с различной эмоциональной резистентностью. Значения концентраций вкДНК в плазме крови предрасположенных и устойчивых к стрессу животных составили соответственно 60 [52;69] ($n = 17$) и 155 [134;174] ($n = 11$) нг/мл. Таким образом, очевидно, что концентрация вкДНК в ЦСЖ крыс была ниже, чем в плазме крови в $2,1$ и $3,0$ раза для предрасположенных и устойчивых к стрессу животных соответственно. Рассчитанные соотношения имеют один порядок с ранее полученными результатами на людях – концентрация вкДНК в ЦСЖ пациентов с болезнью Паркинсона оказалась в $3,3$ ниже, чем в плазме крови [1].

Источниками вкДНК, циркулирующей в биологических жидкостях, являются некротические и апоптотические клетки, а также процессы активной секреции из жизнеспособных клеток [16]. Известно, что ЭС индуцирует неспецифический окислительный стресс (ОС) в организме, сопровождающийся массовой гибелью клеток, что в свою очередь приводит к изменению концентрации и свойств вкДНК, циркулирующей в крови [2]. В мозге стрессовые воздействия индуцируют эксайтотоксичность и нейровоспаления, также приводящие к клеточной гибели [17], а, следовательно, к выбросу вкДНК в экстраклеточное пространство. Кроме того, ранее в работе Струна и Анкера была показана возможность проникновения вкДНК в мозг через гематоэнцефалический барьер [8]. Поэтому в данной работе нам представлялось интересным проверить, происходят ли изменения концентрации вкДНК, циркулирующей в ЦСЖ при ЭС.

Мы не выявили статистически достоверных изменений концентрации вкДНК в ЦСЖ после ЭС, индуцированного $2,5$ ч иммобилизацией за 4 конечности, в группах предрасположенных, устойчивых и амбивалентных к стрессу животных. Также не удалось установить связь между резистентностью животных к ЭС и изменением концентрации вкДНК в ЦСЖ после стресса. Полученный нами результат может быть

объяснен несколькими причинами. Возможно, значительное изменение уровня вкДНК в ЦСЖ происходит лишь в случае развития хронических патологий мозга – болезней Паркинсона, Альцгеймера, злокачественных новообразований [1; 14; 15]. Острые расстройства, такие как ЭС, могут не вызывать существенных изменений, поскольку вкДНК, выбрасываемая в экстраклеточное пространство при гибели клеток мозга, может поглощаться соседними клетками и расщепляться внеклеточными эндонуклеазами, не успевая попасть в желудочки. Другими возможными причинами отсутствия достоверных различий могут служить малый объем выборок животных, сравнительно небольшая длительность стрессорного воздействия, а также наложение процессов расщепления, появления свежей вкДНК в ЦСЖ и изменения скорости локального мозгового кровотока после стресса.

Как следует из полученных нами данных, содержание вкДНК в ЦСЖ отдельных крыс в пределах групп предрасположенных и устойчивых к стрессу животных изменялось не одинаково. Данный факт может быть связан с тем, что тестирование поведения в открытом поле позволяет прогностически оценить степень устойчивости к стрессорным нагрузкам, которая наиболее ярко проявляется в популяционной совокупности животных. При этом индивидуальная устойчивость отдельной особи в группе устойчивых или предрасположенных может варьироваться в широких пределах. У крыс со средним уровнем поведенческой активности изменений в содержании вкДНК и объема полученной ЦСЖ не выявлялись. Такой результат, возможно, был связан с небольшим количеством животных в группе.

По общему количеству ДНК в образцах все животные статистически достоверно разделялись на 2 группы – с низким и высоким общим количеством вкДНК в ЦСЖ. Причем в группе устойчивых к стрессу животных преобладали особи с высоким общим количеством вкДНК в ликворе, а среди предрасположенных и амбивалентных к стрессу – наоборот, с низким. Полученный нами результат свидетельствует о том, что вкДНК, циркулирующая в биологических жидкостях, в перспективе может быть использована в качестве уникального показателя предрасположенности животного к стрессорным воздействиям.

Выявленная нами обратная корреляционная зависимость между изменениями объема аликвот ликвора и концентрации в них вкДНК при ЭС как у предрасположенных, так и у устойчивых к стрессу животных при сохранении общего количества

вкДНК в пробе постоянным может свидетельствовать о существовании механизма жесткой регуляции уровня вкДНК в желудочках мозга. Такой механизм может являться одной из форм адаптации организма и, в частности, мозга к стрессовым воздействиям. В настоящее время неясно, несет ли выявленный нами феномен постоянства общего количества вкДНК в аликвотах ликвора какую-либо физиологическую функцию. Для ответа на этот вопрос необходимы дальнейшие исследования.

Заключение

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что предрасположенные, амбивалентные и устойчивые к стрессу животные в норме различаются по концентрации и общему количеству вкДНК в ЦСЖ желудочков мозга. Среди устойчивых крыс преобладают особи с высоким уровнем вкДНК в ликворе, среди предрасположенных и амбивалентных – с низким. При ЭС у устойчивых и предрасположенных к стрессу крыс происходят изменения объема отбираемых аликвот ликвора и уровня вкДНК в них, а также активируются механизмы, препятствующие изменению общего количества ДНК в ликворе. Выявленные нами закономерности могут являться частью механизма адаптации мозга к стрессорным воздействиям и требуют дальнейшего более тщательного исследования. Данные, полученные в настоящей работе, свидетельствуют о перспективности исследования вкДНК в ЦСЖ животных с различной эмоциональной резистентностью и позволяют надеяться, что вкДНК, циркулирующая в биологических жидкостях, в перспективе может быть использована в качестве уникального показателя предрасположенности животных к стрессорным воздействиям.

Список литературы

1. Глебова К.В., Конорова И.Л., Полещук В.В., Байдакова Г.В., Вейко Н.Н. Свойства внеклеточной ДНК цереброспинальной жидкости и плазмы крови при болезни Паркинсона – пилотное исследование. БЭБИМ. В печати.
2. Конорова И.Л., Вейко Н.Н. Эмоциональный стресс изменяет концентрацию и состав циркулирующей в плазме крови внеклеточной ДНК у крыс в норме и при церебральной ишемии // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – № 3. – С. 281–285.
3. Коплик Е.В. Метод определения критерия устойчивости крыс к эмоциональному стрессу // Вестн новых мед технол. – 2002. – № 9. 1. – Р. 16–18.
4. Лебедев С.В., Блинов Д.В., Петров С.В. Пространственные параметры большой цистерны мозга у крыс и новая техника ее пункции с помощью стереотаксического манипулятора // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2004. – Т. 137, № 6. – С. 717–720.
5. Пшеничкова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии (продолжение) // Патологическая

физиология и экспериментальная терапия. – 2001. – № 1. – С. 26–31.

6. Судаков К.В., Умрюхин П.Е. Системные механизмы эмоционального стресса. – М.: ГЭОТАР, 2009. – 112 с.

7. Angert R.M., Leshane E.S., Yarnell R.W. et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* – 2004. – Vol. 190. – № 4. – P. 1087–1090.

8. Anker P., Stroun M. Bacterial ribonucleic acid in the frog brain after a bacterial peritoneal infection // *Science.* – 1972 Nov 10. – № 178(4061). – P. 621–3.

9. García-Olmo D.C., Ruiz-Piqueras R., García-Olmo D. // *Histol. Histopathol.* – 2004. – Vol. 19, № 2. – P. 575–583.

10. Konorova I.L., Veiko N.N., Novikov V.E.. Influence of plasma DNA on acid-base balance, blood gas measurement, and oxygen transport in health and stroke. *Ann N Y Acad Sci.* 2008.

11. Konorova I.L., Veiko N.N. Emotional stress in rats changes concentration and composition of extracellular DNA circulating in blood plasma under normal conditions and in cerebral ischemia // *Bull Exp Biol Med.* – 2012 Jul. – № 153(3). – P. 305–8.

12. Kostyuk S., Ermakov A., Alekseeva A., et al. // *Mutat. Res.* – 2012. – Vol. 729. – № 1–2. – P. 52–60.

13. Mittra I, Nair NK, Mishra PK. Nucleic acids in circulation: are they harmful to the host? // *J Biosci.* – 2012 Jun. – № 37(2). – P. 301–12.

14. Podlesniy P., Figueiro-Silva J., Llado A., Antonell A., Sanchez-Valle R., Alcolea D., Lleo A., Molinuevo J.L., Serra N., Trullas R. Low CSF concentration of mitochondrial DNA in preclinical Alzheimer's disease // *Ann Neurol.* – 2013 Jun 22. doi: 10.1002/ana.23955. [Epub ahead of print].

15. Rhodes C.H., Honsinger C., Sorenson G.D. // *Am. J. Clin. Pathol.* – 1995. – Vol. 103. – № 4. – P. 404–408.

16. Rykova E.Y., Morozkin E.S., Ponomaryova A.A., Loseva E.M., Zaporozhchenko I.A., Cherdyntseva N.V., Vlassov V.V., Laktionov P.P. Cell-free and cell-bound circulating nucleic acid complexes: mechanisms of generation, concentration and content. *Expert Opin Biol Ther.* – 2012 Jun;12. – Suppl 1. – P. 141–53.

17. Zoppi S., Pérez Nievas B.G., Madrigal J.L., Manzanares J., Leza J.C., García-Bueno B. Regulatory role of cannabinoid receptor 1 in stress-induced excitotoxicity and neuroinflammation. *Neuropsychopharmacology.* – 2011 Mar. – № 36(4). – P. 805–18.

References

1. Glebova K.V., Konorova I.L., Poleshchuk V.V., Bajdakova G.V., Veiko N.N. Svojstva vnekletochnoj DNK cerebrospinal'noj zhidkosti i plazmy krovi pri bolezni Parkinsona – pilotnoe issledovanie. *BJeBIM. V pechati.*

2. Konorova I.L., Veiko N.N. Jemocional'nyj stress izmenjaet koncentraciju i sostav cirkulirujushhej v plazme krovi vnekletochnoj DNK u krys v norme i pri cerebral'noj ishemii. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny,* 2012. no. 3. pp. 281–285.

3. Koplík E.V. Metod opredelenija kriterija ustojchivosti krys k jemocional'nomu stressu. *Vestn novyh med tehnol* 2002; 9: 1: 16–18.

4. Lebedev S.V., Blinov D.V., S. V. Petrov S.V. Prostranstvennye parametry bol'shoj cisterny mozga u krys i novaja

tehnika ee punkcii s pomoshh'ju stereotaksicheskogo manipulyatora. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny,* 2004. T. 137, no. 6. pp. 717–720.

5. Pshennikova, M.G. Fenomen stressa. Jemocional'nyj stress i ego rol' v patologii (prodozhenie) / M.G. Pshennikova // *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija.* 2001. no. 1. pp. 26–31

6. Sudakov K.V., Umrjuhin P.E. Sistemnye mehanizmy jemocional'nogo stressa. Moskva. GJeOTAR. 2009. 112 s. Angert R.M., Leshane E.S., Yarnell R.W. et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2004. Vol. 190. no. 4. pp. 1087–1090.

7. Angert R.M., Leshane E.S., Yarnell R.W. et al. // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2004. Vol. 190. no. 4. pp. 1087–1090.

8. Anker P., Stroun M. Bacterial ribonucleic acid in the frog brain after a bacterial peritoneal infection. *Science.* 1972 Nov 10; 178(4061): 621–3.

9. García-Olmo D.C., Ruiz-Piqueras R., García-Olmo D. // *Histol. Histopathol.* 2004. Vol. 19, no. 2. pp. 575–583.

10. Konorova I.L., Veiko N.N., Novikov V.E. Influence of plasma DNA on acid-base balance, blood gas measurement, and oxygen transport in health and stroke. *Ann N Y Acad Sci.* 2008

11. Konorova I.L., Veiko N.N. Emotional stress in rats changes concentration and composition of extracellular DNA circulating in blood plasma under normal conditions and in cerebral ischemia. *Bull Exp Biol Med.* 2012 Jul;153(3):305–8.

12. Kostyuk S, Ermakov A, Alekseeva A, et al. // *Mutat. Res.* 2012. Vol. 729. no. 1–2. pp. 52–60.

13. Mittra I, Nair NK, Mishra PK. Nucleic acids in circulation: are they harmful to the host? *J Biosci.* 2012 Jun; 37(2): 301–12.

14. Podlesniy P, Figueiro-Silva J, Llado A, Antonell A, Sanchez-Valle R, Alcolea D, Lleo A, Molinuevo J.L, Serra N, Trullas R. Low CSF concentration of mitochondrial DNA in preclinical Alzheimer's disease. *Ann Neurol.* 2013 Jun 22. doi: 10.1002/ana.23955. [Epub ahead of print]

15. Rhodes C.H., Honsinger C., Sorenson G.D. // *Am. J. Clin. Pathol.* 1995. Vol. 103. no. 4. pp. 404–408.

16. Rykova E.Y., Morozkin E.S., Ponomaryova A.A., Loseva E.M., Zaporozhchenko I.A., Cherdyntseva N.V., Vlassov V.V., Laktionov P.P. Cell-free and cell-bound circulating nucleic acid complexes: mechanisms of generation, concentration and content. *Expert Opin Biol Ther.* 2012 Jun;12 Suppl 1:pp. 141–53.

17. Zoppi S., Pérez Nievas B.G., Madrigal J.L., Manzanares J., Leza J.C., García-Bueno B. Regulatory role of cannabinoid receptor 1 in stress-induced excitotoxicity and neuroinflammation. *Neuropsychopharmacology.* 2011 Mar; 36(4):805–18.

Рецензенты:

Стрельников В.В., д.б.н., доцент, главный научный сотрудник, ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, г. Москва;

Лосева Е.В., д.б.н., главный научный сотрудник, ФГБУН «Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН», г. Москва.

Работа поступила в редакцию 20.09.2013.