

УДК 612.159:615.3

БИОСКРИНИНГ ЭФФЕКТОВ 1-ГИДРОКСИЭТАН-1,1-ДИФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПОВЕДЕНИЕ КРЫС-САМЦОВ В ТЕСТЕ ПОРСОЛТА

Черетаев И. В., Чайка А. В., Чуян Е. Н., Раваева М. Ю., Шульгин В. Ф.

*Таврическая академия (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь, Республика Крым, Россия
E-mail: cheretaev86@yandex.ru*

В статье представлены данные биоскрининга эффектов различных доз 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты на поведение лабораторных крыс-самцов в тесте Порсолта. Результаты исследования показали, что это вещество не оказывает существенного влияния на депрессивноподобное поведение крыс-самцов и не обладает побочными эффектами в отношении депрессивного статуса организма, не проявляя ни анти-, ни продепрессантного эффекта.

Ключевые слова: биоскрининг, 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновая кислота, тест Порсолта, депрессия.

ВВЕДЕНИЕ

В современном мире депрессивные аффективные расстройства стали глобальной проблемой всего человечества. Число лиц с психотической депрессией только в странах Европейского Союза с общей численностью населения 466 млн. человек к 2004 г. превышало 21 млн. человек [1], а в Российской Федерации к этому же времени частота депрессивных расстройств в общемедицинской практике составляли от 24 до 64 % среди всех случаев заболеваний [2]. Спустя более 10 лет ситуация не изменилась в лучшую сторону. К 2020 г. по прогнозам Всемирной организации здравоохранения депрессивные расстройства займут второе место в мире по распространенности в структуре всех заболеваний, а по данным за 2015 г. всего в мире около 322 млн. человек из разных возрастных групп страдало депрессией, что составляло 4,4 % населения всего земного шара [3, 4].

Депрессия считается основной причиной инвалидности (7,5 % всех лет к 2015 г., прожитых с инвалидностью), а также является причиной около 800 тысяч самоубийств в год на планете. Каждый год 25 % населения ЕС страдает от депрессии или тревоги. Психоневрологические расстройства в ЕС составляют до 40% лет, прожитых с инвалидностью с депрессией в качестве основной причины. До 50% хронических больничных листов связано с депрессией, а общий ущерб от расстройств настроения и тревоги составляет около 170 млрд. евро в год [4].

Согласно ряду исследований [5-16], 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновая кислота (ДК) является химическим веществом из группы бисфосфонатов, которое обладает рядом уникальных эффектов: ДК используется в медицине в качестве основного действующего компонента в составе препаратов ксидифон и этидронат для лечения остеопороза, опухолевых поражений костей, других костных и онкологических

заболеваний, обладает антирезорбционной активностью, оказывает влияние на обмен кальция в костной ткани и является основой для синтеза ряда производных, обладающих выраженной биологической активностью. Кроме того, известно, что ДК способна включаться в молекулы аденозинтрифосфата (АТФ) и, образуя негидролизуемые аналоги АТФ, ингибирует АТФ-зависимые клеточные процессы, вызывая таким образом, апоптоз остеокластов [17-19].

Как известно [20-26], кальций и АТФ принимают ключевое участие в функционировании структурных элементов нервной системы на клеточном уровне организации живого. Так, при стрессе, повышается уровень возбуждающего нейромедиатора глутамата, что увеличивает вероятность повышения внутриклеточной концентрации кальция внутри нейрона и активирует кальций-зависимые «ферменты смерти», вызывая апоптоз нейронов, вследствие чего развиваются аффективные расстройства поведения, в том числе депрессия [27]. Согласно литературным данным [28], существует положительная взаимосвязь между дисфункцией и митохондрий, продукцией внутриклеточного АТФ и депрессивными расстройствами настроения. Учитывая выше изложенное, вполне уместно предположить, что ДК посредством участия в кальциевой сигнализации и в АТФ-зависимых клеточных процессах может влиять на депрессивное поведение, отражающее функциональное состояние ЦНС.

Согласно [29], изучение антидепрессантной активности обязательно при проведении доклинических исследований биологической активности веществ.

Цель работы – провести биоскрининг эффектов различных доз 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты на поведение крыс-самцов в тесте Порсолта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования выполнены на 50 белых лабораторных крысах-самцах линии Вистар («ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово») массой 180-200 г (5 групп по 10 особей в каждой), содержавшихся в стандартных условиях вивария при температуре 18 – 22 °С на подстилке «Рехофикс МК 2000» (на основе початков кукурузы) с естественным 12-часовым свето-темновым циклом, свободным доступом к воде и (ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур») и полноценному гранулированному корму ГОСТ Р-50258-92. Предварительно в тесте «открытое поле» [30] были отобраны животные со средним уровнем двигательной активности и низким уровнем эмоциональности (для этого использовали инфракрасный актиметр и программное обеспечение Actitrack 2.0 компании «Pan Lab Harvard Apparatus», Испания). Контрольной группе животных однократно внутрибрюшинно вводили физиологический раствор объёмом 0,2 мл. Животным четырёх экспериментальных групп однократно вводили внутрибрюшинно ДК (синтезирована на кафедре общей и неорганической химии Таврической академии ФГАОУ «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского, химическая чистота составляла не менее 98 %) в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг соответственно. Исследование проведено в соответствии с ГОСТ Р-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и правилами Европейской

конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей. Экспериментальная часть работы выполнена в центре коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики.

Поведение животных через 1 час после инъекции ДК исследовали в тесте принудительного неизбежного плавания Порсолта [31], который используется для обнаружения антидепрессантной активности веществ [29]. Установка данного теста представляет собой прозрачный цилиндр из оргстекла высотой 45 см и диаметром 20 см (НПК «Открытая наука», Россия). Цилиндр заполняли на 2/3 водой температурой $+22 \pm 1^\circ\text{C}$. Длительность тестирования составляла 5 минут (однократно без предварительного стрессирования животных). Во время тестирования установка теста Порсолта находилась в изолированном от внешних воздействий малом экспериментальном комплексе (НПК «Открытая наука», Россия»). Регистрировали продолжительность в секундах следующих показателей: «климбинг» – карабканье на стенку установки, «плавание» – плавательные движения в воде и ныряния, «иммобильность» – полное отсутствие плавательных движений. Кроме основных показателей теста рассчитывали индекс депрессивности (отношение суммарного времени иммобильности животных к суммарному времени активного плавания) аналогично работам [32-35]. Активное плавание состояло из суммы продолжительности показателей «плавание» и «климбинг». Достоверность различий между группами определяли с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с апостериорным тестом Тьюки согласно официальным методическим рекомендациям по статистической обработке результатов доклинических исследований лекарственных средств [29]. Данные представлены в виде медианы и межквартильного диапазона, их статистический анализ и графическое представление выполнены в программном пакете Graph Pad Prism 7.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показано на рис. 1, ДК в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг достоверно не изменяла время климбинга, активного плавания и иммобильности по сравнению с контролем (рис. 1, А, В, Г), однако достоверно снижала время плавания в дозах 150 ($n=10$, $p \leq 0,05$, рис. 1, Б) и 200 мг/кг ($n=10$, $p \leq 0,01$, рис. 1, Б) соответственно.

Следовательно, исследуемое вещество в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг не вызывало существенных изменений депрессивноподобного поведения крыс по сравнению с контролем, на что указывают отсутствие различий в показателях «активное плавание» и «иммобильность» относительно контрольной группы. Обнаруженные под влиянием ДК достоверные изменения показателя «плавание» и увеличение межквартильного диапазона показателя «климбинг» (рис. 1, А) в дозах 150 и 200 мг/кг свидетельствуют о том, что данная кислота в указанных дозах изменяла структуру плавательного поведения животных.

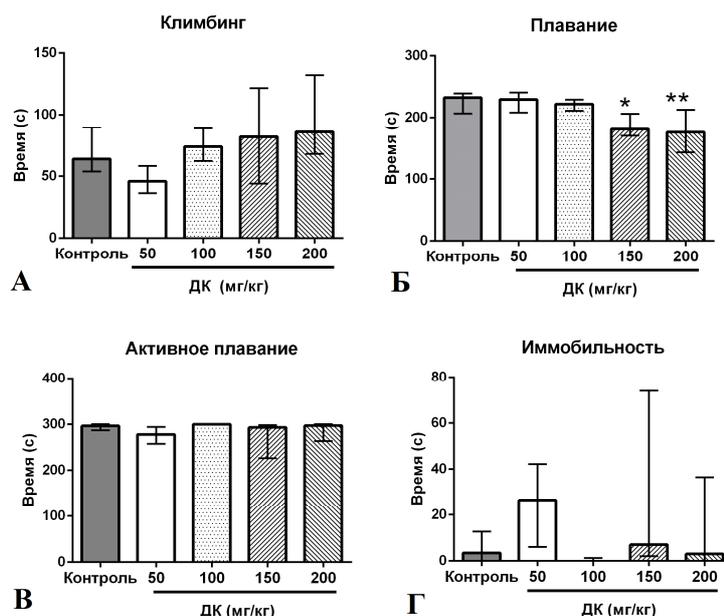


Рис. 1. Влияние 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг на поведенческие показатели лабораторных крыс-самцов в тесте Порсолта. *Примечание:* на рис. А – климбинг, Б – пассивное плавание, В – активное плавание, Г – иммобильность соответственно. ДК - 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновая кислота; * – $p \leq 0,05$, ** – $p \leq 0,01$ – достоверные изменения показателя относительно контроля.

Для того чтобы более детально проследить динамику уровня депрессивноподобного поведения у крыс под влиянием различных доз ДК в тесте Порсолта (рис. 2). Данный показатель у экспериментальных групп существенно не отличался от значений контрольной группы.

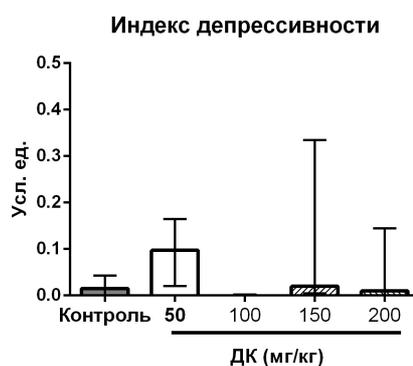


Рис. 2. Влияние 1-гидроксиэтан-1,1-дифосфоновой кислоты (ДК) в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг на индекс депрессивности лабораторных крыс-самцов в тесте Порсолта.

Таким образом, ДК в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг не оказывает существенного влияния на депрессивноподобное поведение крыс-самцов и не проявляет ни анти-, ни продепрессантного эффекта и может быть рекомендовано как основной компонент для синтеза новых производных, не способствующий возникновению аффективных депрессивных расстройств.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Биоскрининг ДК в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг в тесте Порсолта показал, что это вещество не оказывает существенного влияния на депрессивноподобное поведение крыс-самцов и не обладает побочными эффектами в отношении депрессивного статуса организма, не проявляя ни анти-, ни продепрессантного эффекта.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 18-13-00024 «Координационные соединения дифосфонатов металлов со спейсеризованными 1,2,4-триазолами как основа новых гибридных материалов и лекарственных препаратов» на экспериментальном оборудовании центра коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» кафедры физиологии человека и животных и биофизики Таврической академии (структурное подразделение) ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В.И. Вернадского».

Список литературы

1. Sobocki, P. Cost of depression in Europe / P. Sobocki, B. Jönsson, J. Angst et al. // J. Ment. Health Policy Econ. – 2006. – V. 9, № 2. – P. 87–98.
2. Оганов Р. Г. Депрессии и расстройства депрессивного спектра в общемедицинской практике. Результаты программы КОМПАС / Р. Г. Оганов, Л. И. Ольбинская, А. Б. Смулевич [и др.] // Кардиология. – 2004. – № 1. – С. 48–54.
3. World Federation for Mental Health. Depression: A Global Crisis. / World Federation for Mental Health. – J.: WFMH, 2012. – 32 p.
4. World Health Organization. Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates. – J.: WHO, 2017. – 24 p.
5. Silverman, S. L. Rachitic syndrome after disodium etidronate therapy in an adolescent / S. L. Silverman, E. A. Hurvitz, V. S. Nelson, A. Chiodo // I. Arch. Phys. Med. Rehabil. – 1994. – Vol. 75, No 1. – P. 118–120.
6. Reszka, A. A. Mechanism of Action of Bisphosphonates / A. A. Reszka, G. A. Rodan // Curr. Osteoporos. Rep. – 2003. – Vol. 3, No 2. – P. 45–52.
7. Дедов, И. И. Роль и место бисфосфонатов в профилактике и лечении остеопороза 10-летний опыт применения алендроната (фосамакса) / И. И. Дедов, Л. Я. Рожинская, Ж. Е. Белая // Остеопороз и остеопатии. – 2005. – № 1. – С. 20–30.
8. Russell, R. Determinants of structure-function relationships among bisphosphonates / R. Russell // Bone. – 2007. – Vol. 40, No 5. – P. 21–25.
9. Высоцкая, И. В. Рекомендации по применению бисфосфонатов при лечении больных раком молочной железы и изучение состояния костной ткани у больных: по материалам Американского общества клинической онкологии (ASCO). Часть I. Рекомендации по применению бисфосфонатов в лечении рака молочной железы / И. В. Высоцкая // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2008. – № 2. – С. 14–22.

10. Высоцкая, И. В. Рекомендации по применению бисфосфонатов при лечении больных раком молочной железы и изучение состояния костной ткани у больных: по материалам Американского общества клинической онкологии (ASCO). Часть II. Бисфосфонаты в адьювантном лечении рака молочной железы / И. В. Высоцкая // *Опухоли женской репродуктивной системы*. – 2008. – № 3. – С. 36-40.
11. Петриев, В. М. Остеотропные радиофармпрепараты на основе фосфоновых кислот для лечения костных метастазов человека (обзор) / В. М. Петриев, Е. Л. Афанасьева, В. Г. Скворцов // *Хим.-фарм. журн.* – 2008. – Т. 42, № 5. – С. 1-10.
12. Drake, M. T. Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice / M. T. Drake, B. L. Clarke, S. Khosla // *Mayo. Clin. Proc.* – 2008. – Vol. 83, No 9. – P. 1032-1045.
13. Дроздов, В. Эффективность и безопасность лечения остеопении и остеопороза бисфосфонатами / В. Дроздов, Ю. Эмбутниекс // *Врач*. – 2010. – № 5. – С. 67-71.
14. Ковальчук, П. А. Бисфосфонаты и их роль в лечении опухолевых поражений костей (обзор литературы) / П. А. Ковальчук, А. Г. Дедков, С. И. Бойчук, И. Б. Волков // *Клиническая онкология*. – 2012. – № 7 (3). – С. 1-4.
15. Cattalini, J. P. Bisphosphonate-Based Strategies for Bone / J. P. Cattalini, M. Pharm, A. R. Voccaccini // *Tissue engineering: Part B*. – 2012. – V. 18, No 5. – P. 324-326.
16. Мостовой, С. О. Коррекция с помощью хелатообразующих веществ остеосклеротических изменений в нижнечелюстной кости крыс, вызванных приёмом бисфосфонатов / С. О. Мостовой, В. Ф. Шульгин, В. М. Пешков // *Цитология*. – 2018. – Т. 60, № 6. – С. 476-481.
17. Further insight into mechanism of action of clodronate: inhibition of mitochondrial ADP/ATP translocase by a nonhydrolyzable, adenine-containing metabolite [et al.]. / P. P. Lehenkari, M. Kellinsalmi, J. P. Näpänkangas // *Mol. Pharm.* – 2002. – Vol. 61, No 5. – P. 1255-1262.
18. The molecular mechanism of action of the antiresorptive and antiinflammatory drug clodronate: evidence for the formation in vivo of a metabolite that inhibits bone resorption and causes osteoclast and macrophage apoptosis / J. Frith, J. Monkkonen, S. Auriola [et al.]. // *Arthritis Rheum.* – 2001. – Vol. 44, No 9. – P. 2201-2210.
19. Berridge, M. G. Neuronal calcium signaling / M. G. Berridge // *Neuron*. – 1998. – Vol. 21, No 1. – P. 13-18.
20. Беспрозванный, И. Б. Система кальциевой сигнализации при нейродегенерации / И. Б. Беспрозванный // *Acta Naturae*. – 2010. – Т. 2, № 1. – С. 80-88.
21. Berridge, M. G. The Inositol Trisphosphate/Calcium Signaling Pathway in Health and Disease / M. G. Berridge // *Physiol. Rev.* – 2016. – Vol. 96, No 4. – P. 1261-1296.
22. Burnstock, G. Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission / G. Burnstock // *Physiol. Rev.* – 2007. – Vol. 87, No 2. – P. 659-797.
23. Характеристика и механизмы импульсной активности нейронов виноградной улитки / И. В. Черетаев, Д. Р. Хусаинов, И. И. Коренюк [и др.]. // *Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия»*. – 2009. – Т. 22 (61), № 4. – С. 202-215.
24. Анализ АТФ-зависимых и кальциевых механизмов в реализации нейротропного действия аспирина и его производных / И. В. Черетаев, И. И. Коренюк, Д. Р. Хусаинов [и др.] // *Успехи современного естествознания*. – 2013. – № 4. – С. 64-69.
25. АТФ-зависимые и кальциевые механизмы влияния салицилатов на электрические потенциалы нейронов моллюска *Helix albescens* / И. В. Черетаев, И. И. Коренюк, Д. Р. Хусаинов [и др.]. // *Российский физиологический журнал им. И. М. Сеченова*. – 2015. – Т. 101, № 3. – С. 326-336.
26. ATP-Dependent and Calcium Mechanisms of the Effects of Salicylates on Electrical Potentials in Neurons in the Mollusk *Helix Albescens* / I. V. Cheretaev, I. I. Korenyuk, D. R. Khusainov [et al.]. // *Neuroscience and Behavioral Physiology*. – 2016. – Vol. 46, No. 6. – P. 644-651.
27. Role of calcium, glutamate and NMDA in major depression and therapeutic application / L. Deutschenbaur, J. Beck, A. Kiyhankhadiv [et al.]. // *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*. – 2016. – Vol. 64. – P. 325-333.
28. Bansal, Y. Mitochondrial Dysfunction in Depression / Y. Bansal, A. Kuhad // *Current Neuropharmacology*. – 2016. – Vol. 14, No 6. – P. 610-618.

29. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / А. Н. Миронов, Н. Д. Бунатян, А. Н. Васильев [и др.]. – Ч. 1. М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.
30. Буреш, Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреш, О. Бурешова, Д. Хьюстон. – М.: Высшая школа, 1991. – 399 с.
31. Porsolt, R. D. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments / R. D. Porsolt, M. Le Pinchon, M. Jalfre // *Nature*. – 1977. – No 5604. – P. 730–732.
32. Черетаев, И. В. Влияние сверхнизких концентраций 2-аминометилбензимидазола на поведение крыс в тесте Порсолта в норме и на фоне активации дофаминергической системы юмексом / И. В. Черетаев // *Молодой учёный*. – 2014. – № 19 (78). – С. 100-104.
33. Влияние сверхмалых концентраций бензимидазола на поведенческие реакции крыс в тесте Порсолта в норме и на фоне активации дофаминергической системы юмексом / И. В. Черетаев, И. И. Коренюк, Т. В. Гамма [и др.]. // *Учёные записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия»*. – 2014. – Т. 27 (66), № 4. – С. 192-199.
34. Минина, Е. Н. Влияние малых доз даларгина при интраназальном введении на поведение крыс в тесте Порсолта / Е. Н. Минина, И. В. Черетаев // *Крымский журнал экспериментальной и клинической медицины*. – 2016. – Т. 6, № 4. – С. 22-26.
35. Влияние сверхмалых доз ацетилсалицилата цинка на поведение крыс в тесте Порсолта в норме и при активации дофаминергической системы юмексом / И. В. Черетаев, Д. Р. Хусаинов, И. И. Коренюк [и др.]. // *Ученые записки Крымского федерального университета имени В.И. Вернадского. Биология, химия*. – 2016. – Т. 2 (68), № 3. – С. 36-44.

BIOSCREENING EFFECTS 1-HYDROXYETHANE-1,1-DIPHOSPHONIC ACID ON THE BEHAVIOR OF MALE RATS IN THE PORSOLT'S TEST

Cheretaev I. V., Chajka A. V., Chuyan E. N., Ravaeva M. Yu., Shulgin V. F.

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Crimea, Russia
E-mail: cheretaev86@yandex.ru*

The article presents the data of bioscreening of the effects of various doses of 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid on the behavior of laboratory male rats in the Porsolt test.

In the modern world, depressive affective disorders have become a global problem for all of humanity. The number of persons with psychotic depression only in the European Union countries with a total population of 466 million people by 2004 exceeded 21 million people, and in the Russian Federation by this time the frequency of depressive disorders in general medical practice ranged from 24 to 64% among all cases of disease. After more than 10 years, the situation has not changed for the better. By 2020, according to the World Health Organization, depressive disorders will occupy the second place in the world in terms of the prevalence in the structure of all diseases, and according to data for 2015, about 322 million people from different age groups in the world suffered from depression, which amounted to 4.4 % of the population of the entire globe.

According to a number of studies, 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid (DC) is a chemical substance from the group of bisphosphonates, which has a number of unique effects: DK is used in medicine as the main active ingredient in xidiphon and etidronate for the treatment of osteoporosis, tumor lesions of bones, other bone and cancer diseases, has antiresorption activity, affects the exchange of calcium in bone tissue and is the basis for the synthesis of a number of derivatives that have Agen biological activity. In addition,

it is known that DK is capable of being incorporated into adenosine triphosphate (ATP) molecules and, forming non-hydrolyzable analogs of ATP, inhibits ATP-dependent cellular processes, thus causing osteoclast apoptosis.

Considering the above, it is quite appropriate to assume that DC, by participating in calcium signaling and in ATP-dependent cellular processes, can affect depressive behavior reflecting the functional state of the CNS.

The study of antidepressant activity is necessary when conducting preclinical studies of the biological activity of substances.

The aim of the work is to conduct bioscreening of the effects of various doses of 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid on the behavior of male rats in the Porsolt test.

The studies were performed on 50 white laboratory rats-males of the Wistar line ("FSUE" Nursery of laboratory animals "Rappolovo") weighing 180-200 g (5 groups of 10 animals each) kept in standard vivarium conditions at a temperature of 18 - 22 ° C in the understyle "Rehofix MK 2000" (based on corn cobs) with a natural 12-hour light-dark cycle, free access to water and (GOST 33215-2014 "Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for equipping premises and organizing procedures") and complete granulated feed in accordance with GOST R-50258-92. Previously, in the open field test [30], animals were selected with an average level of motor activity and a low level of emotionality (for this purpose, an infrared actimeter and the software of Actitrack 2.0 from Pan Lab Harvard Apparatus, Spain) were used. The control group of animals was once intraperitoneally injected with a saline of 0.2 ml. The animals of the four experimental groups were once intraperitoneally injected with DK (synthesized at the Department of General and Inorganic Chemistry of the Tavrichesky Academy FGAOU "Crimean Federal University. VI Vernadsky, chemical purity was at least 98%) in doses of 50, 100, 150 and 200 mg / kg, respectively. The experimental part of the work was performed in the center for collective use of scientific equipment "Experimental Physiology and Biophysics" of the Department of Human and Animal Physiology and Biophysics.

The behavior of animals 1 hour after the injection of DC was investigated in the test of the forced unavoidable swimming of Porsolt, which is used to detect the antidepressant activity of substances. The significance of differences between groups was determined using univariate analysis of variance (ANOVA) with Tukey's a posteriori test in accordance with the official guidelines for the statistical processing of the results of preclinical studies of drugs. The data are presented in the form of a median and interquartile range, their statistical analysis and graphical representation are made in the software package Graph Pad Prism 7.0.

The results of the study showed that 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid does not have a significant effect on the depressive-like behavior of male rats and does not have side effects in relation to the depressive status of the body, showing no anti- or prodepressant effect.

Keywords: bioscreening, 1-hydroxyethane-1,1-diphosphonic acid, Porsolt test, depression.

References

1. Sobocki P., Jönsson B., Angst J. et al., Cost of depression in Europe, *J. Ment. Health Policy Econ.* 9 (2), 87 (2006).
2. Oganov R. G., Ol'binskaya L. I., Smulevich A. B., Depressii i rasstrojstva depressivnogo spektra v obshchemedicinskoj praktike. Rezul'taty programmy KOMPAS, *Kardiologiya*, 1, 48 (2004).
3. World Federation for Mental Health, *Depression: A Global Crisis*, 32 p. (Geneva., WFMH, 2012).
4. World Health Organization, *Depression and Other Common Mental Disorders: Global Health Estimates*, 24 p. (Geneva., WHO, 2017).
5. Silverman S. L., Hurvitz E. A., Nelson V. S., Chiodo A., Rachitic syndrome after disodium etidronate therapy in an adolescent, *I. Arch. Phys. Med. Rehabil.*, **75**, **1**, 118 (1994).
6. Reszka A. A., Rodan G. A. Mechanism of Action of Bisphosphonates, *Curr. Osteoporos. Rep.*, **3**, **2**, 45 (2003).
7. Dedov I. I., Rozhinskaya L. Ya., Belaya Zh. E., Rol' i mesto bisfosfonatov v profilaktike i lechenii osteoporoza 10-letnij opyt primeneniya alendronata (fosamaksa), *Osteoporoz i osteopatii*, **1**, 20 (2005).
8. Russell R., Determinants of structure-function relationships among bisphosphonates, *Bone*, **40**, **5**, 21 (2007).
9. Vysockaya I. V., Rekomendacii po primeneniyu bisfosfonatov pri lechenii bol'nyh rakom molochnoj zhelezy i izuchenie sostoyaniya kostnoj tkani u bol'nyh: po materialam Amerikanskogo obshchestva klinicheskoy onkologii (ASCO). Chast' I. Rekomendacii po primeneniyu bisfosfonatov v lechenii raka molochnoj zhelezy, *Opuholi zhenskoy reproductivnoj sistemy*, **2**, 14 (2008).
10. Vysockaya I. V., Rekomendacii po primeneniyu bisfosfonatov pri lechenii bol'nyh rakom molochnoj zhelezy i izuchenie sostoyaniya kostnoj tkani u bol'nyh: po materialam Amerikanskogo obshchestva klinicheskoy onkologii (ASCO). Chast' II. Bisfosfonaty v ad"yuvantnom lechenii raka molochnoj zhelezy, *Opuholi zhenskoy reproductivnoj sistemy*, **3**, 36 (2008).
11. Petriev V. M., Afanas'eva E. L., Skvorcov V. G., Osteotropnye radiofarmpreparaty na osnove fosfonovyh kislot dlya lecheniya kostnyh metastazov cheloveka (obzor), *Him.-farm. zhurn.*, **42**, **5**, 1 (2008).
12. Drake, M. T. Clarke B. L., Khosla S., Bisphosphonates: Mechanism of Action and Role in Clinical Practice, *Mayo. Clin. Proc.*, **83**, **9**, 1032 (2008).
13. Drozdov V., Ehmbutnieks YU., Effektivnost' i bezopasnost' lecheniya osteopenii i osteoporoza bifosfonatami, *Vrach*, **5**, 67 (2010).
14. Koval'chuk P.A., Dedkov A. G., Bojchuk S. I., Volkov I. B., Bifosfonaty i ih rol' v lechenii opuholevyh porazhenij kostej (obzor literatury), *Klinicheskaya onkologiya*, **7**, **3**, 1 (2012).
15. Cattalini J. P., Pharm M., Boccaccini A. R., Bisphosphonate-Based Strategies for Bone, *Tissue engineering: Part B*, **18**, **5**, 324 (2012).
16. Mostovoj S. O., Shul'gin V. F., Peshkov V. M., Korrekciya s pomoshch'yu helatoobrazuyushchih veshchestv osteoskleroticheskikh izmenenij v nizhnechelyustnoj kosti krys, vyzvannyh priyomom bisfosfonatov, *Citologiya*, **60**, **6**, 476 (2018).
17. Lehenkari P. P., Kellinsalmi M., Näpänkangas J. P., Ylitalo K. V., Mönkkönen J., Rogers M. J., Azhayev A., Väänänen H. K., Hassinen I. E., Further insight into mechanism of action of clodronate: inhibition of mitochondrial ADP/ATP translocase by a nonhydrolyzable, adenine-containing metabolite, *Mol. Pharm.*, **61**, **5**, 1255 (2002).
18. Frith J., Monkkonen J., Auriola S., Mönkkönen H., Rogers M., The molecular mechanism of action of the antiresorptive and antiinflammatory drug clodronate: evidence for the formation in vivo of a metabolite that inhibits bone resorption and causes osteoclast and macrophage apoptosis, *Arthritis Rheum.*, **44**, **9**, 2201 (2001).
19. Berridge M. G., Neuronal calcium signaling, *Neuron*, **21**, **1**, 13 (1998).
20. Besprozvannyj I. B., Sistema kal'cievoj signalizacii pri nejrodegeneracii, *Acta Naturae*, **2**, **1**, 80 (2010).
21. Berridge M. G., The Inositol Trisphosphate/Calcium Signaling Pathway in Health and Disease, *Physiol. Rev.*, **96**, **4**, 1261 (2016).
22. Burnstock G., Physiology and pathophysiology of purinergic neurotransmission, *Physiol. Rev.*, **87**, **2**, 659 (2007).

23. Cheretaev I. V., Husainov D. R., Korenyuk I. I., Gamma T. V., Charakteristika i mekhanizmy impul'snoj aktivnosti nejronov vinogradnoj ulitki, *Uchenye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta im. V. I. Vernadskogo. Seriya «Biologiya, himiya»*, **22 (61), 4**, 202 (2009).
24. Cheretaev I. V., Korenyuk I. I., Husainov D. R., Katyushina O. V., Gamma T. V., Kolotilova O. I., Analiz ATF-zavisimyh i kal'cievyyh mekhanizmov v realizacii nejrotropnogo dejstviya aspirina i ego proizvodnyh, *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*, **4**, 64 (2013).
25. Cheretaev I. V., Korenyuk I. I., Husainov D. R., Katyushina O. V., Gamma T. V., Kolotilova O. I., ATF-zavisimye i kal'cievye mekhanizmy vliyaniya salicilatov na ehlektricheskie potentsialy nejronov molluska *Helix albescens*, *Rossijskij fiziologicheskij zhurnal im. I. M. Sechenova*, **101, 3**, 326 (2015).
26. Cheretaev I. V., Korenyuk I. I., Khusainov D. R., Gamma T. V., Kolotilova O. I., Nozdrachev A. D., ATP-Dependent and Calcium Mechanisms of the Effects of Salicylates on Electrical Potentials in Neurons in the Mollusk *Helix Albescens*, *Neuroscience and Behavioral Physiology*, **46, 6**, 644 (2016).
27. Deutschenbaur L., Beck J., Kiyhankhadiv A., Mühlhauser M., Borgwardt S., Walter M., Hasler G., Sollberger D., Lang U. E., Role of calcium, glutamate and NMDA in major depression and therapeutic application, *Prog. Neuro-Psychopharmacol. Biol. Psychiatry*, **64**, 325 (2016).
28. Bansal Y., Kuhad A., Mitochondrial Dysfunction in Depression, *Current Neuropharmacology*, **14, 6**, 610 (2016).
29. Mironov A. N., Bunatjan A. D., Vasil'ev A. N. i dr., *Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv*. Ch. 1. 944 s. (Moskva: Grif i K, 2012).
30. Buresh Ja., Bureshova O., H'juston D. *Metodiki i osnovnye jeksperimenty po izucheniju mozga i povedenija*, 399 p. (Moscow, Vysshaja shkola, 1991).
31. Porsolt R. D., Le Pinchon M., Jalfre M., Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments, *Nature*, **5604**, 730 (1977).
32. Cheretaev I. V., Vliyanie sverhnizkikh koncentracij 2-aminometilbenzimidazola na povedenie krys v teste Porsolta v norme i na fone aktivacii dofaminergicheskoy sistemy yumeksom, *Molodoj uchyonyj*, **19 (78)**, 100 (2014).
33. Cheretaev I. V., Korenyuk I. I., Gamma T. V., Husainov D. R., Vliyanie sverhmalyh koncentracij benzimidazola na povedencheskie reakcii krys v teste Porsolta v norme i na fone aktivacii dofaminergicheskoy sistemy yumeksom, *Uchyonye zapiski Tavricheskogo nacional'nogo universiteta im. V. I. Vernadskogo. Seriya «Biologiya, himiya»*, **27 (66), 4**, 192 (2014).
34. Minina E.N., Cheretaev I.V., Vliyanie malyh doz dalargina pri intranazal'nom vvedenii na povedenie krys v teste Porsolta, *Krymskij zhurnal ehksperimental'noj i klinicheskoy mediciny*, **6, 4**, 22 (2016).
35. Cheretaev I. V., Husainov D. R., Korenyuk I. I., Yakovleva M. A., Vliyanie sverhmalyh doz acetilsalicilata cinka na povedenie krys v teste Porsolta v norme i pri aktivacii dofaminergicheskoy sistemy yumeksom, *Uchenye zapiski Krymskogo federal'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Biologiya, himiya.*, **2 (68), 3**, 36 (2016).