

ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ ЕСЦИТАЛОПРАМ И ФИЗИЧЕСКА АКТИВНОСТ ПРИ НЕОНАТАЛЕН LPS ИНДУЦИРАН МОДЕЛ НА ДЕПРЕСИЯ ПРИ ПЛЪХОВЕ

Е. Харитов, Е. Босилкова, Й. Радева, Е. Ангелеска, Л. Борисова и Т. Добрева

*Катедра по фармакология и токсикология,
Медицински факултет, МУ – София*

Резюме. Научни данни през последните години доказват, че невровъзпалението има ключова роля в патогенезата на депресията. Значителен процент от пациентите с депресивни разстройства не постигат задоволителен терапевтичен отговор. Видна е необходимостта от търсене на алтернативни подходи в антидепресивната терапия, която да повлиява невровъзпалителните механизми, въввлечени с патогенезата на депресията. Умерената физическа активност е обещаваща в този аспект, но няма проучвания доколко терапевтичният ѝ ефект се дължи на засилване на установените вече антиинфламаторни ефекти на модерните антидепресанти. Цел на настоящото проучване е оценка на антидепресивните и антиинфламаторните ефекти от самостоятелното и комбинираното прилагане на есциталопрам и т.нар. въртящо се колело в индуциран с липополизахарид (LPS) модел на депресия при плъхове, порода Вистар. Резултатите от проучването показват, че комбинираното прилагане на есциталопрам и въртящо се колело води до сигнификантно най-изразен ефект върху показателите за депресивност в поведенческите тестове (FST и SPT), в сравнение със самостоятелното им прилагане. Особено важно е силното редуциране в нивата на проинфламаторния цитокин IL-1 β в хипокампусите на експерименталните животни под влияние на комбинираното прилагане на двата подхода. Тези резултати дават основание да се твърди, че физическата активност и някои от съвременните антидепресанти (SSRIs – selective serotonin reuptake inhibitors) действат синергично по отношение на депресивната симптоматика и в основата на това взаимодействие са техните идентични ефекти на редуциране в нивата на невровъзпалението в ЦНС, които са свързани с депресивното разстройство.

Ключови думи: депресия, есциталопрам, невровъзпаление, плъхове, физическа активност, SSRIs

INTERACTIONS BETWEEN ESCITALOPRAM AND PHYSICAL ACTIVITY IN NEONATAL LPS-MODEL OF DEPRESSION IN RATS

E. Haritov, E. Bosilkova, J. Radeva, E. Angeleska, L. Borisova and T. Dobрева

Department of Pharmacology and Toxicology, Medical Faculty, Medical University – Sofia

Abstract. Emerging evidence indicate that neuroinflammation may play a crucial role in the pathogenesis of depression. The increased prevalence of depressive disorders is due to suboptimal management. The current approach for treating depression includes different antidepressants, but they do not influence the underlying neuroinflammatory pathophysiology of depression. A significant percentage of patients not respond properly to currently available antidepressants. Obviously there is a major need to identify alternatives for treating depression and suppress the pathological neuroinflammation associated with depression. Moderate physical activity is promising in this aspect, but it is still unclear whether aerobic exercise could increase the therapeutic effect of modern antidepressants by reducing neuroinflammatory alterations in CNS. The aim of our study is to evaluate the antidepressant and anti-inflammatory effects of combined application of physical activity and escitalopram in LPS-induced model of depression in Wistar rats. Depression was induced by administration on postnatal day 10 (PND 10) of LPS (50 µg/kg, i.p.). After the weaning of rats at 21 PND, they received escitalopram (10 mg/kg) per os and had a free access to running wheel for 3 weeks. After the end of this period the animals were subject of forced swim test, sucrose preference test and were sacrificed in order to assess the levels of IL-1beta by ELISA in the hippocampus. The results of our study showed that combined application of escitalopram and running wheel produce significantly higher effect, compared to single application of both on immobility time in FST, sucrose consumption and importantly on the reduction of the level of IL-1beta in the hippocampus of rats. The present study provides novel evidence that physical activity act in a synergic manner with SSRIs in treating depression by suppressing the brain proinflammatory milieu. Our study provides strong evidence that by augmentation of anti-inflammatory properties of SSRIs, physical activity is valuable tool for the treatment of therapeutic-resistant depression.

Key words: *depression, neuroinflammation, physical activity, rat, SSRIs*

Въведение

Депресивното разстройство е тежко, често срещано психично заболяване, чиято честота е 16% в световен мащаб. Според СЗО депресията е заболяване, което се нарежда на второ място по честота на загубени години от живота поради нетрудоспособност и преждевременна смърт, като се предполага, че ще бъде водеща причина през 2030 г.

Съществуват различни теории по отношение на патогенезата на депресията, като повечето от тях предполагат участие на фактори на околната среда в асоциация с генетична предразположеност и неврохимични нарушения в ЦНС [7]. През последните години се утвърди т.нар „citoкинова хипотеза за депресията“, в която се подчертава централната роля на проинфламаторните цитокини като ключови фактори и медиатори на поведенческите и неврохимичните нарушения при депресивното разстройство. Пациентите, страдащи от депресия, имат нарушение във функциите на имунната система, като повишени нива на проинфламаторни цитокини в плазмата и ЦНС [19].

Въпреки че стандартната терапия на депресията е фармакотерапия и психотерапия, или комбинация от двете, ефективността на този вид лечение е непълна. По отношение на фармакотерапията е доказано, че само 30 до 50% от пациентите имат задоволителен терапевтичен отговор към монотерапия с антидепресанти. Селективните инхибитори на обратния захват на серотонин (SSRI) са предпочитани антидепресанти поради това, че са безопасни и добре толерирани [11]. Ефектът на SSRI обикновено се обяснява с повлияване на моноаминергичната невротрансмисия, тъй като се предполага, че депресията се причинява от релативен недостиг на серотонин и други моноамини. Това обаче не може да обясни цялостния ефект на SSRI [5]. Ремисия се установява в още по-малък процент от пациентите – 15-40% [16]. Освен това 50% от всички пациенти нямат адекватен клиничен отговор към прилаганите антидепресанти. По тази причина се налагат или смяна на антидепресанта, или т.нар. усилване на действието при голяма част от пациентите [18]. За съжаление, даже тези допълнителни терапевтични стратегии не довеждат до пълна ремисия. Очевидна от клинична гледна точка е необходимостта от допълнителни нефармакологични терапевтични стратегии.

През последните години голям брой проучвания доказват, че физическата активност има терапевтична стойност като добавъчно лечение към стандартната терапия [12], а също така, че аеробните упражнения са успешен подход за повлияване на терапевтично резистентните форми на депресия. Установено е, че даже еднократното практикуване на физическа активност довежда до установими невробиологични и клинични ефекти [22].

Голям брой изследвания доказват, че психичният стрес е свързан с депресивните симптоми чрез някои от механизмите на невровъзпалението. Установено е, че той активира клетъчни сигнални пътища, свързани с проинфламаторните цитокини в периферните тъкани и централната нервна система. Клинични проучвания доказват, че както острият, така и хроничният стрес довеждат до повишена продукция и освобождаване на проинфламаторни цитокини [9]. През последното десетилетие различни изследвания показват, че промените в триптофановия метаболизъм под влияние на проинфламаторните цитокини са във взаимовръзка с депресивните симптоми, предизвикани от психологичен стрес [15].

В проучвания с животни прилагането на липополизахарид (LPS) причинява системно възпаление чрез стимулация на експресията на проинфламаторни цитокини като TNF-alpha и IL-1-beta и довежда до симптоми като анхедония, нарушения в съня и намален прием на храна при животните [5]. Тези симптоми са сходни с депресивните признаци в изследвания при хора [4]. Системното прилагане на LPS е често използвано като модел на предизвикване на депресия при експериментални животни.

Ефектът на физическата активност върху антидепресивните ефекти на SSRI не е добре проучен досега. Настоящото проучване се основава на предположение, според което, физическата активност чрез потискане на невроинфламаторните процеси в ЦНС свързани с депресията, допринася за терапевтичните ефекти на антидепресантите.

Цел на проучването е първо, е да се потвърди наличието на LPS индуцирани депресивни признаци и инфламаторни отговори в ЦНС на експерименталните животни, а на следващ етап да се проучи дали физическата активност под формата на прилагане на уреда въртящо се колело усилва антидепресивната активност

на есциталопрам. Второ, проучването проследява дали тези ефекти се дължат на антиинфламаторните влияния на физическата активност върху ЦНС и взаимовръзката им с вече установените в други проучвания антиинфламаторни ефекти на SSRI^s.

Материал и методи

Лекарства и тестове

Есциталопрам (Лундбек, Дания, 10 mg/kg, per os). Лекарството се разтваря в изотоничен физиологичен разтвор 0,9%. За измерване нивата на цитокините в мозъка се използва ELISA кит (BioVendor) за IL-1 beta.

Експериментални животни

Използвахме три женски плъха от порода Вистар, които бяха доставени от Централния вивариум на МУ – София, и след период от една седмица за аклиматизация в клетката беше поставен един мъжки зрял плъх. След престой от 10 дни той беше отстранен и женските плъхове бяха поставени в индивидуални клетки. В резултат на оплождането се получи потомство от 38 новородени, от които бяха селектирани групи от мъжки новородени по шест в група ($n = 6$). Бяха използвани максимум по три новородени от всяка клетка. Десет дни след раждането (постнатален ден 10) потомството беше редуцирано до 36 животни. На същия постнатален 10-ти ден животните бяха извадени за кратко от клетките, бяха премерени и третирани еднократно с LPS или физиологичен разтвор.

Неонаталните мъжки плъхове (т.т. 30 до 50 g) бяха отделени от майките на 21-ви постнатален ден и групирани в шест групи по шест животни в клетка, като в този вид бяха отглеждани при стандартни лабораторни условия до достигане на възраст 6 седмици. Беше поддържана константна стайна температура ($21^{\circ} \text{C} \pm 2^{\circ} \text{C}$) при режим 12:12 h осветена към тъмна среда, съобразно циркадния ритъм на животните и със свободен достъп до храна и вода. Храната и водата бяха налични ad libitum. Експериментите бяха осъществявани между 8 и 15 h. Всички експерименти са изпълнени в съгласие с изискванията за опити с животни на Етичната комисия на Медицински университет – София, с цел да се намали броят на използваните животни и тяхното страдание.

Експериментален дизайн

След отделянето на новородените от майките на 21-ви постнатален ден животните бяха разделени, както беше споменато, на 6 групи по 6 животни в група (n = 6). Групите бяха следните:

1. В първата група животните бяха третирани с физиологичен разтвор, per os в течение на 3 седмици и служеха за **негативна контрола**.

2. Във втората група (**позитивна контролна група 1 – въртящо се колело**) след 21-ви постнатален ден животните имаха свободен достъп до уреда въртящо се колело.

3. В третата група (**позитивна контролна група 2 – LPS група**) животните бяха третирани еднократно с LPS (50 µg/kg на постнатален ден 10, i.p.).

4. В четвърта група (**експериментална група 1 – LPS + въртящо се колело**) животните бяха третирани на 10-и постнатален ден с (LPS 50 µg/kg, i.p.) и след 21-ви ден имаха свободен достъп до въртящо се колело.

5. В петата група (**експериментална група 2 – LPS + есциталопрам**) животните бяха третирани с LPS (50 µg/kg, i.p.) на 10-и постнатален ден. След отбиването на животните на 21-ви ден те бяха третирани с есциталопрам (10 mg/kg, per os) за период от 3 седмици.

6. В шестата група (**експериментална група 3 LPS + есциталопрам + въртящо се колело**) животните бяха еднократно третирани с (LPS 50 µg/kg, i.p.) на 10-и ден. След отбиването им на 21-ви ден животните бяха третирани комбинирано с есциталопрам (10 mg/kg, per os) за период от 3 седмици и имаха достъп до въртящо се колело за същия период.

След изтичането на описания период от три седмици животните бяха подложени на поведенчески тестове (forced swim test – FST и sucrose preference test – SPT). Непосредствено след тях животните бяха декапитирани, мозъците бяха отделени и бяха приготвени хомогенати. Беше използван sandwich ELISA метод за определяне нивата на проинфламаторния цитокин IL-1-beta.

Протокол за физическа активност тип въртящо се колело

След отделянето на незрелите плъхове от майките на 21-ви постнатален ден, те бяха разпределени в съответните експери-

ментални групи (n = 6), като в три от групите (самостоятелно прилагане на въртящо се колело, LPS + въртящо се колело и LPS + въртящо се колело + есциталограм) животните имаха неограничен достъп до устройството. Съответните клетки бяха снабдени с уред за физическа активност въртящо се колело и устройство за измерване броя на въртенията, съответно изминатата дистанция. Изминатата дистанция бе измерена чрез умножаване на диаметъра на колелото (25 cm) по броя на ротациите. Дистанцията е средна и в зависимост от броя на животните в клетката. Средната дневна дистанция в периода от 3 седмици беше 1230 ± 135 m. В нашето проучване изследвахме дали този вид физическа активност оказва антидепресивни ефекти и дали индуцира промени в нивата на проинфламаторния цитокин IL-1-beta в хипокампусите на експерименталните животни.

Поведенчески изследвания

Тест за принудително плуване (forced swim test – FST)

Тестът се използва за оценка на депресивните симптоми при експериментални животни. Състои се от две сесии с продължителност 15 и 5 min, разделени от 24 h период. Изследванията се осъществяват в цилиндри, напълнени с 40 cm вода, на стайна температура. За 5 min интервал се оценяват следните параметри, показателни за наличие или отсъствие на депресивни симптоми: 1) Време на неподвижност; 2) Време на плуване; 3) Време на активно катерене по стените на цилиндъра. Удълженият период на неподвижност се разглежда като белег за наличие на депресивна симптоматика в експерименталните животни.

Тест за консумация на глюкоза (sucrose preference test – SPT)

Намалената консумация на захароза се разглежда като еквивалент на анхедонията при депресивните пациенти в клиничната практика. Накратко, в течение на 24 h в клетките животните имат достъп до две бутилки. Едната с вода, а другата с 1% на захароза. Местата на бутилките се разменят в средата на експеримента. Т. нар. индекс за консумация на захароза се изчислява по формулата: Индекс за консумация на захароза = коли-

чество приет захарозен разтвор (ml)/количество приет захарозен разтвор (ml) + количество приета вода (ml).

Колекция на мозъчна тъкан и измерване нивата на IL-1-beta в хипокамп

Животните бяха декапитирани, мозъците бяха веднага отделени и хипокампусите извадени. Последва хомогенизация с протеинов екстракционен реагент, съдържащ протеазен инхибитор. Пробите бяха центрофугирани при 15 000 g за 10 min, а супернатантите отделени за измерване нивата на IL-1-beta по метода sandwich ELISA (BioVendor – детектиращи граници = 4,8 pg/ml; обсег на детекция = 12,5-800 pg/ml) съгласно инструкциите на производителя. Абсорбцията беше определена при 450 nm и 620 nm с ELISA reader.

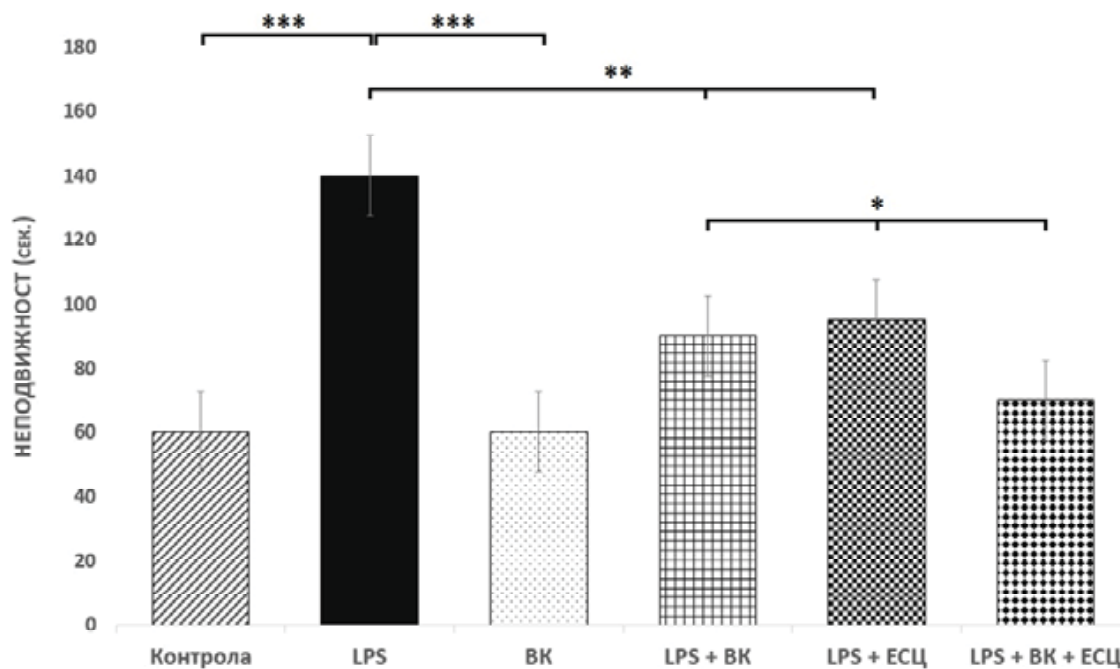
Статистически анализ

Данните се обработиха с метода на вариационния анализ One-Way ANOVA. За различните показатели бяха определяни средна аритметична стойност (Mean) и стандартна грешка (\pm SEM). За статистически значима разлика се приема $p < 0.05$.

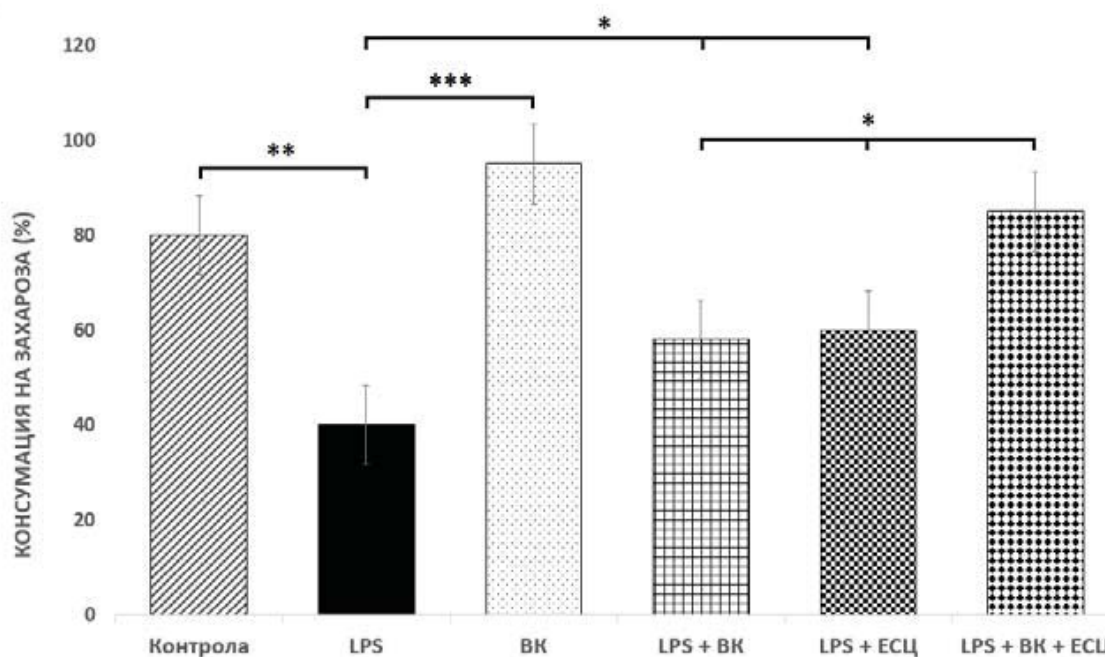
Резултати

Поведенчески тестове

Продължителността на периода на неподвижност (immobility time) в експерименталните групи е представена на фиг. 1. Установи се статистически значима разлика между групата с прилагане на LPS и контролната група животни ($p < 0.001$). От друга страна, прилагането съответно на есциталограм и въртящо се колело в 3-та и 4-та група довежда до статистически значимо редуциране на периода на неподвижност в тези групи в сравнение с група 2 с прилагане на LPS ($P < 0.01$). От особена важност е фактът, че комбинираното прилагане на есциталограм и въртящо се колело в последната, 6-а експериментална група показва статистически значими разлики ($P < 0.05$) спрямо групите със самостоятелно прилагане на есциталограм и въртящо се колело.



Фиг. 1. Ефекти на самостоятелното и комбинираното прилагане на есциталопрам и въртящо се колело при FST



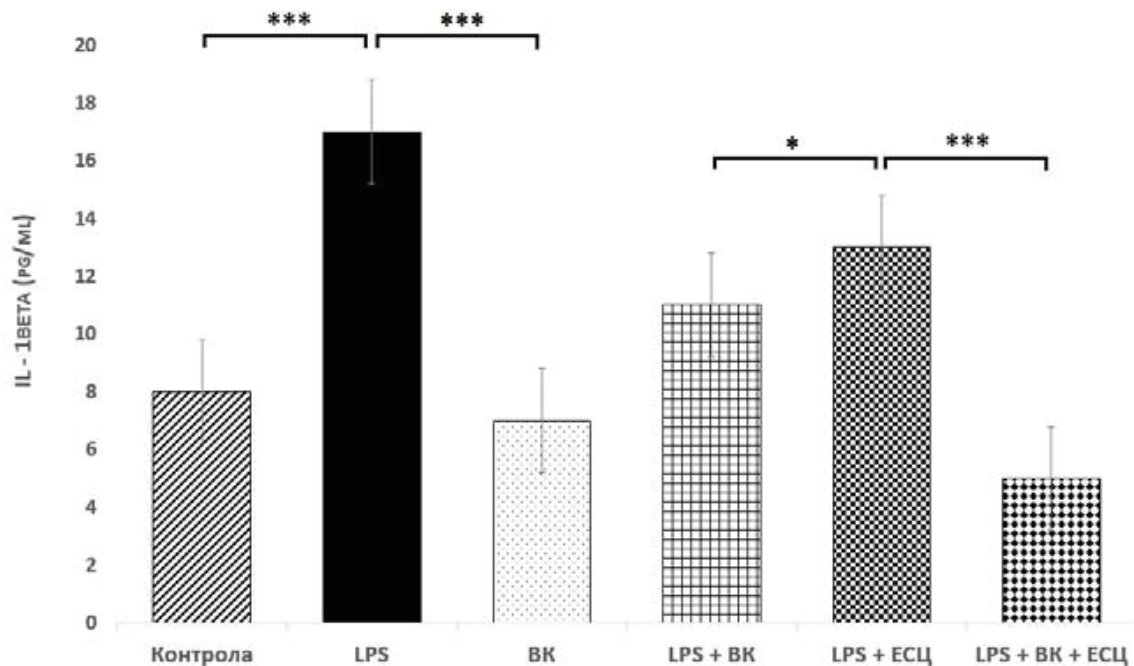
Фиг. 2. Ефекти на самостоятелното и комбинираното прилагане на есциталопрам и въртящо се колело при теста за консумация на захароза (SPT)

Както се вижда от фиг. 2, ANOVA анализът разкрива статистически значими разлики в индекса за консумация на захароза (sucrose preference test). Post-hoc анализът доказва, че животните

от 2-рата група (LPS) имат най-ниска консумация на захароза в сравнение с останалите групи, и по-специално с контролната група животни ($p < 0.001$). Предварителното третиране на животните с есциталопрам в 4-ата група и достъпът до въртящо колело в 5-ата група водят до сигнификантно повишен прием на захароза и разлика ($P < 0.05$) в сравнение с групата с LPS. Най-високо ниво на консумация на захароза, подобно на FST, се установи в групата с комбинирано прилагане на есциталопрам и въртящо се колело ($P < 0.05$) в сравнение с групите със самостоятелното им прилагане.

Метод ELISA за определяне на IL-1-beta в хипокамп

Промените в нивата на IL-1 β в хипокампуса на експерименталните животни са проследени чрез метода сандвич-ELISA и са представени на фиг. 3. Тенденциите от поведенческите експерименти FST и SPT се запазват и тук, като най-ниски статистически значими нива на IL-1 β в сравнения, подобни на горните, се установяват в групата с комбинирано прилагане на есциталопрам и въртящо се колело ($P < 0.001$) (сравнение с група 5).



Фиг. 3. Ефекти на самостоятелното и комбинираното прилагане на есциталопрам и въртящо се колело върху нивата на IL-1 β в хипокампус

Обсъждане

Установено е, че появата и развитието на депресията са свързани с повишена активност на инфламаторните процеси и продукцията и на проинфламаторни цитокини, които вероятно имат ключова роля в патогенезата на заболяването [17]. В нашето проучване за първи път се демонстрира, че комбинираното прилагане на физическа активност и есциталопрам води до адитивни антидепресивни ефекти, вероятно поради техните общи антиинфламаторни ефекти.

Прилагането на LPS довежда до поява на свързани с възпалението депресивни симптоми при експериментални животни. Така например 24 h след системната апликация на LPS голям брой изследвания установяват поява на признаци на депресивна симптоматика [20]. Резултатите от нашето изследване показват, че прилагането на LPS довежда до депресивни симптоми в поведенческите тестове при плъхове, което е в съзвучие с предишни проучвания [23]. Ние установихме, че прилагането на LPS води до сигнификантно повишаване на нивата на IL-1-beta в хипокампуса на експерименталните животни. Третирането с есциталопрам в течение на 3 седмици след прилагане на LPS редуцира нивата на инфламаторните цитокини в ЦНС. Освен това проучването показва, че антидепресивните ефекти на есциталопрама могат да бъдат модулирани чрез адитивно прилагане на физическа активност при животните. Като заключение, нашето изследване доказва, че физическата активност и SSRI намаляват депресивната симптоматика вероятно поради общи ефекти върху невроимунните нарушения в ЦНС, свързани с депресията. Вероятно в основата на това са техни общи ефекти върху сигнални пътища, свързани с невровъзпалението.

Доказано е, че физическата активност е ефективна както като самостоятелна, така и като допълваща терапия при лечение на депресия [11]. Съвременни проучвания показват, че полът и анамнезата на пациентите са ключови фактори, определящи терапевтичния отговор към лечението с умерена физическа активност [1].

Нашите резултати, демонстриращи, че промените в IL-1-beta са свързани с промени в депресивната симптоматика, са в съзвучие с нарастващия брой изследвания върху цитокините и лечението със SSRI [6]. Например установено е, че отговарящите на терапия със SSRI пациенти имат по-ниски нива на IL-1-beta в края на лечението в сравнение с пациентите, неотговарящи на антидепресивната терапия [21].

Нашата хипотеза е, че физическата активност вероятно наподобява действието на SSRI по отношение на намаляване нивата на невровъзпаление в мозъка на пациенти с депресия.

Заклучение

Нашето изследване показва, че комбинацията от физическа активност и терапия с антидепресанти е иновативен подход в лечението на депресията специално при пациенти с повишени нива на инфламаторни биомаркери. Проучването също дава сериозни доказателства, че чрез повишаване на антиинфламаторните свойства на SSRI физическата активност е ценно средство за лечение на терапевтично резистентни депресии. Необходими са допълнителни проучвания за изясняване комплексния ефект на физическата активност върху хода на депресията и сходствата на тези ефекти с ефекта на антидепресантите.

Библиография

1. Barrientos RM. Voluntary exercise as an antineuroinflammatory therapeutic. *Brain Behav Immun*, 2011; 25:1061-1062.
2. Blier P. Neurotransmitter targeting in the treatment of depression. *J Clin Psych*, 2013; 74(Suppl 2):19-24.
3. Carvalho LA, Torre JP, Papadopoulos AS, et al. Lack of clinical therapeutic benefit of antidepressants is associated overall activation of the inflammatory system. *J Affect Disord.*, 2013; 148:136-140.
4. Chen B, Dowlatshahi D, MacQueen GM, et al. Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol Psych*, 2009; 50:260-265.
5. Custodio CS, Ferreira Mello BS, Cordeiro RC, et al. Time course of the effects of lipopolysaccharide on prepulse inhibition and brain nitrite content in mice. *Eur J Pharmacol.*, 2013; 713:31-38.
6. Dantzer R. Cytokine-induced sickness behavior: mechanisms and implications. *Ann NY Acad Sci*, 2001; 933:222-234.
7. Dantzer R, Wollman E, Vitkovic L, Yirmiya R. Cytokines and depression: fortuitous or causative association. *Mol Psych*, 1999; 4:328-32.
8. Deak, T, Bellamy C, D'Agostino LG, Rosanoff M. Behavioral responses during the forced swim test are not affected by anti-inflammatory agents or acute illness induced by lipopolysaccharide. *Behav Brain Res*, 2005; 160:125-134.
9. Dowlati Y, Hermann N, Swardfager W, et al. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psych*, 2012; 67:446-457.
10. Duman CH, Schlesinger L, Russell DS, Duman RS. Voluntary exercise produces antidepressant and anxiolytic behavioral effects in mice. *Brain Res*, 2008; 1199:148-158.

11. Ernst C, Olson AK, Pinel JP, Lam RW. Antidepressant effects of exercise: evidence for an adult-neurogenesis hypothesis? *J Psych Neurosci*, 2006; 3:84-92.
12. Greer TL, Trivedi MH. Exercise in the treatment of depression. *Curr Psych Rep*, 2009; 11:466-472.
13. Hannestad J, DellaGioia N, Bloch M. The effect of antidepressant medication treatment on serum levels of inflammatory cytokines: a meta-analysis. *Neuropsychopharmacology*, 2011; 36:2452-2459.
14. Henry CJ, Huang Y, Wynne A, Hanke C. Minocycline attenuates lipopolysaccharide (LPS)-induced neuroinflammation, sickness behavior, and anhedonia. *J Neuroinflamm*, 2008; 5:15-22.
15. Liu Y, Manxop C, Mak A. Interleukin (IL)-6, tumour necrosis factor alpha (TNF-alpha) and soluble interleukin-2 receptors (sIL-2R) are elevated in patients with major depressive disorder: a meta-analysis and meta-regression. *J Affect Disord*, 2012; 139:230-239.
16. Lopez-Munoz F, Alamo C. Monoaminergic neurotransmission: the history of the discovery of antidepressants from 1950 until today. *Curr Pharm Des*, 2009; 15:1563-1586.
17. Maes M. The immune regulatory effects of antidepressants. *Hum Psych Pharmacol*, 2001; 16:95-103.
18. Millan MJ. The role of monoamines in the actions of established and novel antidepressant agents: a critical review. *Eur J Pharmacol*, 2004; 500:371-384.
19. Miller A, Maletic V, Raison CL. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression, *Biological Psychiatry*, 2009; 65:732-41.
20. O'Connor JC, Lawson MA, Andre C, Briley EM. Induction ofIDO by bacille Calmette-Guerin is responsible for development of murine depressive-like behavior. *J Immunol*, 2009; 182:3202-3212.
21. Ohgi Y, Futamura T, Kikuchi T, Hashimoto K. Effects of antidepressants on alterations in serum cytokines and depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide administration. *Pharmacol. Biochem Behav*, 2013; 103:853-859.
22. Russo-Neustadt A, Ha T, Ramirez R, Kessler JP. Physical activity-antidepressant treatment combination: impact on brain-derived neurotrophic factor and behavior in an animal model. *Behav Brain Res*, 2009; 120:87-95.
23. Sulakhiya K, Kumar P, Jangra A, Dwivedi S. Honokiol abrogates lipopolysaccharide-induced depressive like behavior by impeding neuroinflammation and oxidonitrosative stress in mice. *Eur J Pharmacol*, 2014; 744:124-131.
24. Zoladz JA, Pilc A. The effect of physical activity on the brain derived neurotrophic factor: from animal to human studies. *J Physiol Pharmacol*, 2010; 61:533-54.

✉ *Адрес за кореспонденция:*
 Д-р Евгени Харитов
 ☎ 0898914337
 e-mail: evgeniharitov@gmail.com