

*О.С. Григорчук, П.Е. Умрюхин*

## **ВНЕКЛЕТОЧНАЯ ДНК В ЛИКВОРЕ ПОВЕДЕНЧЕСКИ АКТИВНЫХ И ПАССИВНЫХ КРЫС ПРИ СТРЕССОРНОЙ НАГРУЗКЕ**

*ФГБНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К.Анохина», Москва, Россия*

**Резюме.** Работа посвящена исследованию уровня внеклеточной ДНК (вкДНК) в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) крыс с различной поведенческой активностью в норме и условиях психоэмоционального стресса. В контрольной группе поведенчески активных животных наблюдалась тенденция к большему уровню вкДНК по сравнению с пассивными 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 животных составила 70 и 33% соответственно. После эмоционального стресса (ЭС) в группах поведенчески активных и пассивных животных нами выявлена обратная корреляционная зависимость между изменением объема 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.

**Актуальность.** 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 недостаточно литературных данных о вкДНК, присутствующей в цереброспинальной жидкости (ЦСЖ). В 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. 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 поведенческой активностью в тесте «открытое поле» в норме и условиях иммобилизационной стрессорной нагрузки.

**Материал и методы исследования.** В работе были использованы 22 самца крыс Вистар массой 200-220 г. Исследования проводили в соответствии с

международными правилами «Guide for the Care and Use of Laboratory Animals». Индивидуальную поведенческую активность 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. Известно, что поведенчески активные животные являются прогностически устойчивыми к стрессорным нагрузкам. Пассивные особи – прогностически предрасположенными к неблагоприятному воздействию стресса [3]. К активным особям были отнесены 9 животных со значением ИА менее 0.8, к 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 часов. Полученные образцы ликвора быстро замораживали и хранили при -200С.

ЦСЖ доводили физиологическим раствором до объема 400 мкл, а затем проводили выделение вкДНК фенольным методом [1]. Концентрацию вкДНК определяли на флуориметре Enspire™ 2300 (Perkin Elmer) по флуоресценции Picogreen (Invitrogen, США) при длинах 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 Me [25%; 75%]. Для исследования связи признаков использовали непараметрический анализ по Спирмену.

***Полученные результаты и их обсуждение.*** Медианы концентраций вкДНК в ликворе активных, пассивных 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 поведенчески активных 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.

Статистический анализ концентраций вкДНК в ликворе по группам после эмоционального стресса не обнаружил различий между группами активных и пассивных животных. Однако медианы концентраций вкДНК в ликворе пассивных, активных 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

поведенчески активных животных демонстрировала тенденцию к снижению, а у предрасположенных – наоборот, к повышению.

Таблица 1.

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

Показатели	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]

После стрессорной нагрузки изменения содержания вкДНК были выявлены у 5 из 9 активных животных. При этом у 4 крыс уменьшение концентрации вкДНК сопровождалось увеличением объема аликвот отбираемого ликвора. У 5-ой 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.

Как в группе активных, так и в группе пассивных крыс нами была выявлена обратная корреляционная зависимость между изменением объема аликвот 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 пассивных (n=10) и активных (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). При этом в норме среди активных крыс всего 33% животных имели низкое количество вкДНК в ЦСЖ, в то время как доля таких животных среди пассивных особей составила 70%. Низкое количество вкДНК в ЦСЖ было обнаружено и у всех изучаемых амбивалентных животных. После ЭС эта закономерность сохранялась. В группе активных 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 пассивных животных постоянство общего количества вкДНК было отмечено у 8 из 10 животных, а у двух крыс наблюдали прирост и снижение количества вкДНК, соответственно.

В данной работе впервые была проведена оценка концентрации вкДНК в ЦСЖ из большой цистерны головного мозга животных с различной поведенческой активностью в тесте «открытое поле». 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 активных животных совпадает 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 литературных источниках [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 поведенческой активностью. Значения концентраций вкДНК в плазме крови пассивных и активных 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 пассивных и активных 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].

Считается, что 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 Строуна и Анкера была показана возможность проникновения вкДНК в мозг через гемато-энцефалический барьер [8]. Поэтому в данной работе нам представлялось интересным проверить, происходят ли изменения концентрации вкДНК, циркулирующей в ЦСЖ при ЭС.

Нами не была выявлена статистическая достоверность изменений концентрации вкДНК в ЦСЖ после ЭС, индуцированного 2.5ч иммобилизацией за 4 конечности, в группах поведенчески пассивных, активных и амбивалентных животных. Также не

удалось установить связь между прогностической резистентностью животных к ЭС и изменением концентрации вкДНК в ЦСЖ после стресса. 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.

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 поведенчески активных животных преобладали особи с высоким общим количеством вкДНК в ликворе, а среди пассивных и амбивалентных – 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 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.

**Выводы.** Полученные нами данные свидетельствуют о том, что поведенчески пассивные, активные и амбивалентные в тесте «открытое поле» животные в норме различаются по концентрации и общему количеству вкДНК в ЦСЖ желудочков мозга. Среди активных (прогностически устойчивых к стрессорным нагрузкам) крыс преобладают особи с высоким уровнем вкДНК в ликворе, среди пассивных (прогностически предрасположенных к стрессу) и амбивалентных – с низким. При ЭС у активных и пассивных 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 стрессирующим 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.

### **Литература.**

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. N 3. С.281-285.

3. Коплик Е.В. Метод определения критерия устойчивости крыс к эмоциональному стрессу. Вестн новых мед технол 2002; 9: 1: 16-18.

4. Лебедев С.В., Блинов Д.В., С. 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, N 6. С. 717-720.

5. Пшенникова, М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии (продолжение) / М. Г. Пшенникова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2001. -№ 1. - С. 26-31

6. Судаков К.В., Умрюхин П.Е. Системные механизмы эмоционального стресса. Москва. 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):621-3.

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

10. Konorova IL, Veiko NN, Novikov VE. 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 IL, Veiko NN. 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. №1-2. P. 52-60.

13. Mitra 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 JL, 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 EY, Morozkin ES, Ponomaryova AA, Loseva EM, Zaporozhchenko IA, Cherdyntseva NV, Vlassov VV, Laktionov PP. Cell-free and cell-bound circulating nucleic acid

complexes: mechanisms of generation, concentration and content. *Expert Opin Biol Ther.* 2012 Jun;12 Suppl 1:S141-53.

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

**Abstract.**

**O.S. Grigorochuk, P.E. Umriukhin**

**CELL-FREE DNA IN RAT'S CEREBROSPINAL FLUID UNDER EMOTIONAL STRESS LOAD**

*P.K. Anokhin institute of normal physiology [o.grigorochuk@nphys.ru](mailto:o.grigorochuk@nphys.ru); [pavelum@mail.ru](mailto:pavelum@mail.ru)*

The levels of cell-free DNA (cfDNA) were studied in cerebrospinal fluid (CSF) of rats with different activity by results of open field test before and after immobilization stress. In control active rats' group demonstrated a tendency to higher cfDNA level in comparison to passive 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 active and passive 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

**References**

1. Glebova K.V., Konorova I.L., Poleshchuk V.V., Bajdakova G.V., Vejko N.N. Svoystva vnekletochnoj DNK cerebrospinal'noj zhidkosti i plazmy krovi pri bolezni Parkinsona – pilotnoe issledovanie. BJeBIM. V pechati.
2. Konorova I.L., Vejko N.N. Jemocional'nyj stress izmenjaet koncentraciju i sostav cirkulirujushhej v plazme krovi vnekletochnoj DNK u krys v norme i pri cerebral'noj ishemii. Bjul'ten' jeksperimental'noj biologii i mediciny, 2012. N 3. S.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. Prostranstvennyye parametry bol'shoj cisterny mozga u krys i novaja tehnika ee punkcii s pomoshh'ju stereotaksicheskogo manipulyatora. Bjul'ten' jeksperimental'noj biologii i mediciny, 2004. T.137, N 6. S. 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. -№ 1. - S. 26-31
6. Sudakov K.V., Umrjukhin P.E. Sistemnyye 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. №4. P. 1087-1090.
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):621-3.
9. García-Olmo D.C., Ruiz-Piqueras R., García-Olmo D. // *Histol. Histopathol.* 2004. Vol. 19, №2. P. 575-583.
10. Konorova IL, Veiko NN, Novikov VE. 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 IL, Veiko NN. 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. №1-2. P. 52-60.

13. Mitra 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 JL, 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 EY, Morozkin ES, Ponomaryova AA, Loseva EM, Zaporozhchenko IA, Cherdyntseva NV, Vlassov VV, Laktionov PP. Cell-free and cell-bound circulating nucleic acid complexes: mechanisms of generation, concentration and content. *Expert Opin Biol Ther.* 2012 Jun;12 Suppl 1:S141-53.

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

**Сведения об авторах:** Григорчук Ольга Святославовна – к.б.н., ассистент Первого московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, научный сотрудник лаборатории системных механизмов эмоционального стресса ФГБНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К.Анохина РАН; Умрюхин Павел Евгеньевич д.м.н., профессор Первого московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова, старший научный сотрудник лаборатории системных механизмов эмоционального стресса ФГБНУ НИИ нормальной физиологии им. П.К.Анохина РАН.