

## ИЗУЧЕНИЕ КОНФОРМАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ АЛЬБУМИНА СЫВОРОТКИ КРОВИ ПРИ МЕЛАНХОЛИЧЕСКОЙ ДЕПРЕССИИ НА ФОНЕ ФАРМАКОТЕРАПИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СУБНАНОСЕКУНДНОЙ ФЛЮОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

© 2022 г. М. Г. Узбеков<sup>1, \*</sup>, Н. В. Смолина<sup>1</sup>, Т. И. Сырейщикова<sup>2</sup>,  
В. В. Бриллиантова<sup>1</sup>, Г. Е. Добрецов<sup>3</sup>, С. Н. Шихов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Московский НИИ психиатрии Минздрава РФ, Москва, Россия

<sup>2</sup>Физический институт им. В.П. Лебедева РАН, Москва, Россия

<sup>3</sup>Научный и клинический центр физико-химической медицины, Москва, Россия

Поступила в редакцию 21.06.2022 г.

После доработки 22.06.2022 г.

Принята к публикации 27.06.2022 г.

Целью исследования было изучение конформации альбумина сыворотки у больных с меланхолической депрессией. Было обследовано 22 пациента с меланхолической депрессией и 54 здоровых добровольца (контроль). Больные с меланхолической депрессией были обследованы в динамике антидепрессивной терапии (венлафаксин – 75–150 мг/сутки): при поступлении в клинику, на 15-й и 30-й дни. Субнаносекундная лазерная разрешенная во времени флуоресцентная спектроскопия с использованием флуоресцентного зонда K-35 (диметиламинонафталеновая кислота N-карбоксихенилимида CAPIDAN) была применена для изучения конформации альбумина. В контроле были выявлены 3 связывающих центра для зонда на молекуле альбумина со временем затухания 1, 3 и 9 наносекунд (амплитуды  $A_3$ ,  $A_2$  and  $A_1$  соответственно). Усредненные амплитуды  $A_3$ ,  $A_2$  и  $A_1$  в альбумине сыворотки больных с меланхолической депрессией были достоверно выше по сравнению с контролями ( $p = 0.025$ ). После антидепрессивной терапии с использованием венлафаксина было выявлено, что все величины всех трех амплитуд достоверно снижались и были равны величинам амплитуд контролей. Мы полагаем, что изученные параметры могут служить в качестве потенциальных биомаркеров для оценки эффективности проводимой психофармакотерапии.

*Ключевые слова:* альбумин сыворотки, связывающие центры, флуоресцентный зонд CAPIDAN, лазер, разрешенная во времени спектроскопия, меланхолическая депрессия, фармакотерапия

DOI: 10.31857/S1027813322040215

Депрессия является одним из наиболее распространенных заболеваний в мире, и одной из основных причин потери трудоспособности. Становится очевидным, что в течение последних 10 лет ежегодно около 5–7% людей в популяции в мире страдали от депрессии. Полагают, что в будущем один из 6 человек будет страдать от любой формы депрессии [1]. Депрессия также является фактором риска развития многих серьезных соматических заболеваний. Она усугубляет их течение и создает риск развития осложнений и преждевременной смерти [2, 3]. Депрессии стали большой медико-социальной проблемой, которая в последующие годы будет только ухудшаться [3]. Поэтому всестороннее изучение депрессии и патогене-

тических механизмов этого заболевания является одной из основных задач медицинской науки. Разработка подходов к прогнозу и оценке эффективности терапии депрессий является чрезвычайно важной задачей [4]

В настоящее время прогнозирование эффективности терапии проводится методом “проб и ошибок” [5]. Индивидуальный выбор наиболее эффективного антидепрессанта требует более 1 месяца терапии, тогда как достижение ремиссии достигается за несколько месяцев. Уменьшение периода выбора адекватной, персонализированной терапии является значительным достижением медицинской науки и практики.

Становится понятным, почему огромные усилия прилагают исследователи многих стран мира на уяснение биохимических и, в меньшей степе-

\* Адресат для корреспонденции: 107076 Россия, Москва, Потешная ул. д. 3, корп. 10; тел.:8-495-963-76-26; e-mail: uzbekovmg@gmail.com.

ни, биофизических маркеров депрессии, что было бы полезным в диагностическом процессе.

Мы считаем, что нарушения молекулярных процессов при психических заболеваниях могут быть связаны с изменениями конформационного состояния белков, т.е. ориентации белковой молекулы в пространстве (кровь) [6]. В качестве примера можно указать на прионы — белки, у которых нарушена конформация, что ведет к психическим расстройствам [7].

Ранее при помощи метода стационарной флуоресцентной спектроскопии мы показали, что шизофрения, различные типы стресса сопровождаются конформационными изменениями альбумина сыворотки крови [8].

Альбумин сыворотки крови человека (Human Serum Albumin, HSA) составляет приблизительно 60% от массы крови человека. Альбумин выполняет множество функций: поддерживает осмотическое давление крови и окислительно-восстановительный баланс, регулирует проницаемость сосудов и гемостаз; альбумин является эффективным сквенджером (scavenger). Важнейшей функцией альбумина является связывание и транспорт низкомолекулярных соединений в особенности фармакологических препаратов [9].

До настоящего времени нет ответа на вопрос — если концентрация альбумина в крови в нормальных пределах, значит ли это, что молекула альбумина способна нормально выполнять свои функции при патологических состояниях? Для ответа на этот вопрос требовалось создать новую технологию анализа структурных изменений в молекуле альбумина, которая была бы, с одной стороны, высокочувствительной и, с другой стороны, достаточно простой для использования клиническими лабораториями [10].

Целью этой работы была попытка найти параметры, которые отражали бы конформационные изменения молекулы альбумина у больных меланхолической депрессией в процессе фармакотерапии с использованием субнаносекундной флуоресцентной спектроскопии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было обследовано 22 пациента (14 женщин и 8 мужчин) с меланхолической депрессией (МД) в соответствии с “The Criteria for Melancholic Features Specifiers, The Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders Fourth Edition/ Test Revision, (DSM-IV-TR)”. Состояние больных в соответствии с Международной классификацией болезней, 10-е издание, клинические модификации (ICD-10-CM) оценивалось как депрессивный

эпизод в рамках биполярного депрессивного расстройства (Тип 2) (F32) или в структуре рекуррентного депрессивного расстройства (F33). Тяжесть заболевания оценивалась при помощи шкалы Гамильтона для депрессии (HAM-D) (21 пункт) [11].

Клиническая картина, критерии включения в и исключения из исследования описаны ранее [12]. Все пациенты на момент госпитализации в Клинику аффективных расстройств Московского НИИ психиатрии не получали, по крайней мере в течение 2-х недель, никакой антидепрессивной терапии.

Все больные дали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией о медицинских исследованиях с участием людей и заключением локального этического комитета Московского научно-исследовательского института психиатрии (№ 16, 13.03.2017).

Больные с МД были обследованы в динамике антидепрессивной терапии (венлафаксин — 75–150 мг/день): при поступлении в стационар, на 15 и 30 дни терапии. Контрольная группа (кон.) состояла из 54 добровольцев, которые по клинико-биохимическим параметрам были здоровыми индивидами и были демографически и по возрасту сравнимы с больными МД.

Субнаносекундная лазерная разрешенная во времени флуоресцентная спектроскопия с флуоресцентным зондом K-35 (dimethylaminonaphthalic acid N-carboxyphenylimide, CAPIDAN) была применена для исследования конформации альбумина [13]. (K-35 был синтезирован и любезно предоставлен профессором Б.М. Красовицким и сотрудниками из Института монокристаллов Национальной академии наук Украины, Харьков, Украина).

В экспериментах были использованы лиофилизированные препараты HSA. HSA растворяли в фосфатном буфере, содержащем 0.137 М натрий хлорида и 0.01 М фосфата натрия, pH 7.4. Водный раствор CAPIDAN в концентрации 1.4 мМ, добавляли в желаемой концентрации к раствору HSA в буферном растворе.

Сыворотку крови пациентов разбавляли в 20 раз в фосфатном буфере. К каждой пробе сыворотки добавляли флуоресцентный зонд CAPIDAN в конечной концентрации 30 мкМ. Приблизительной 95% общей интенсивности флуоресценции излучалось молекулами зонда CAPIDAN, связанного с альбумином [13]. Амплитуды затухания зонда были нормализованы с концентрацией HSA сыворотки, так, чтобы молярное отношение CAPIDAN/HSA в пробах было одинаковым.

**Таблица 1.** Изменения амплитуд затухания флуоресценции зонда CAPIDAN в динамике терапии больных с меланхолической депрессией

Группа	<i>N</i> людей	$A_1$ деп./ $A_1$ конт.	$A_2$ деп./ $A_2$ конт.	$A_3$ деп./ $A_3$ конт.
Контроль	54	$1.00 \pm 0.02$	$1.00 \pm 0.03$	$1.00 \pm 0.03$
До лечения	22	$1.23 \pm 0.05$	$1.21 \pm 0.04$	$1.19 \pm 0.04$
15 дней лечения	20	$1.09 \pm 0.06$	$1.09 \pm 0.05$	$1.05 \pm 0.05$
30 дней лечения	17	$0.97 \pm 0.07$	$0.97 \pm 0.07$	$1.03 \pm 0.07$

Величины амплитуд пациентов были нормализованы на соответствующие величины амплитуд добровольцев (контроль). Деп. – пациенты с депрессией, конт. – контроли. Средние величины представлены как  $M \pm m$  при  $P < 0.05$ .

Затухание флуоресценции зонда CAPIDAN, связанного с альбумином сыворотки измерялось в нано- и пико-секундных диапазонах на новом устройстве, разработанном в Физическом институте им. В.П. Лебедева РАН, для флуоресцентных исследований. В основе устройства был пульсирующий источник света (Pico-Quant laser или LED) с длиной волны 405 или 459 нм и максимальной частотой повторов в 40 МГц. Большая часть экспериментов проводилась при помощи LED (Laser emission diode) при частоте повторов при 10 МГц и максимальной оптической мощности в 30 мкВт. Измерение флуоресценции проводили при длине волны в 535 нм. Фотоумножитель Hamamatsu RMA-182 служил для детектирования фотонов. Устройство Pico-Quant TimeHarp 200 PCI-Board использовалось в качестве скоррелированного по времени счетчиком единичных фотонов. Его конвертор состоял из 4096 каналов для детектирования фотонов с шириной канала в 33 пикосекунды. Длительность возбуждающего импульса составляла приблизительно 700 пикосекунд. Интервал между импульсами был равен 100 наносекунды. Длительность измерения равнялась 10 мин. Устройство было оснащено термостабилизированной кюветой, набором интерференционных фильтров для измерений в интервале 450–650 нм и поляризаторами. Все измерения и обработка данных были компьютеризированы при использовании AMD Sempron PC, the Pico-Quant TimeHarp и программное обеспечение FluoFit [14].

До начала экспериментов была определена кинетика затухания флуоресценции калибратора (раствор 3-метоксибензантрона в этаноле). Это давало возможность сравнивать интенсивности флуоресценции, измеренной в разные дни, и использовать калибратор в качестве стандарта ам-

плитуд для вычисления флуоресцирующих молекул зонда CAPIDAN в сыворотке [15].

Полученные данные были статистически обработаны, используя Statistics 6.0 and Excel 2007. Достоверность различий оценивали, используя тест Wilcoxon'a. Данные в табл. 1 для пациентов с МД и добровольцев представлены как  $M \pm m$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Взаимодействие зонда CAPIDAN с молекулой альбумина.** Ранее нами было показано, что использование субнаносекундной флуоресцентной спектроскопии позволяет выявлять нарушения в связывающих центрах альбумина у больных тревожной депрессией и первого эпизода шизофрении, что было невозможным выявить при использовании метода стационарной флуоресцентной спектроскопии [8]. Такой подход (субнаносекундная флуоресцентная спектроскопия) был применен в настоящей работе.

Если комплекс – альбумин–зонд CAPIDAN – возбудить коротким световым импульсом, то затем после захвата квантов света комплекс начинает излучать флуоресцирующие фотоны, интенсивность которых снижается во времени. Длительность этого процесса составляет несколько десятых наносекунды. Для регистрации таких очень быстрых процессов понадобились вышеприведенные физические методы.

Если все молекулы зонда CAPIDAN, связанные с альбумином, находились в одинаковых условиях среды, то интенсивность флуоресценции  $F$  затухала со временем  $t$  в соответствии с формулой:

$$F(t) = A \exp(-t/\tau),$$

где,  $A$  – амплитуда и  $\tau$  – константа времени затухания.

Амплитуда  $A$  пропорциональна количеству молекул зонда, которые обладают соответствующими временами затухания флуоресценции [15].

Однако, в случае комплекса альбумин–зонд CAPIDAN затухание флуоресценции описывается суммой трех экспонент, а не одной экспонентой, как в случае стационарной флуоресцентной спектроскопии:

$$F(t) = A_1 \exp(-t/\tau_1) + A_2 \exp(-t/\tau_2) + A_3 \exp(-t/\tau_3),$$

где,  $\tau_i$  – константа времени затухания,  $A_i$  – амплитуды.

В обезжиренном альбумине сыворотки человека, выделенном из сыворотки, времена затухания флуоресценции находились в следующих временных интервалах: 7.7–9.5 ns для  $\tau_1$ ; 2.8–3.5 ns для  $\tau_2$  и 0.7–1.1 ns для  $\tau_3$  [16].

**Результаты по исследованию больных с меланхолической депрессией.** Анализ всех параметров затухания флуоресценции зонда CAPIDAN в сыворотке крови контролей и больных с МД показал, что до начала антидепрессивной терапии средние значения амплитуд  $A_1$ ,  $A_2$  и  $A_3$  в сыворотке пациентов были достоверно выше, чем в группе контроля. Были установлены достоверные различия между амплитудами для каждого компонента:  $A_1$  –  $117 \pm 7$  и  $142 \pm 10$ ;  $A_2$  –  $358 \pm 14$  и  $420 \pm 26$ ;  $A_3$  –  $371 \pm 16$  и  $433 \pm 29$  относительных единиц, соответственно, для контролей и МД пациентов. Применение теста Вилкоксона для проб контролей и пациентов выявило достоверные различия  $A_1$  амплитуд между этими группами ( $p = 0.025$ ).

Параметры затухания флуоресценции зонда CAPIDAN были исследованы в динамике психофармакотерапии больных с МД. Было установлено достоверное снижение величины амплитуды  $A_1$  при МД (деп.), нормализованной со средними величинами амплитуды  $A_1$  контролей (конт.) ( $A_1$  деп./ $A_1$  конт.) для больных с МД после терапии венлафаксином. На 30 день терапии величины амплитуд  $A_1$  у больных МД и контролей были практически одинаковыми. Подобная ситуация была отмечена для амплитуд  $A_2$  и  $A_3$  (табл. 1).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Связывающие центры альбумина различаются и/или находятся в разном функциональном состоянии. Это объясняет ситуацию, почему флуоресценция зонда CAPIDAN различна. Определяя затухание флуоресценции можно получить более обширную картину состояния связывающих центров альбумина. Поэтому вместо одного усред-

ненного параметра – эффективная концентрация альбумина, который мы получали при использовании метода стационарной флуоресцентной спектроскопии (Uzbekov et al., 2006), у нас появляется возможность оценить состояние трех различных связывающих центров на молекуле альбумина [9].

Амплитуды  $A_1$ ,  $A_2$  и  $A_3$ , характеризующие число молекул, связанных с разными связывающими центрами альбумина их взаимосвязь, являются достаточно чувствительными к тем изменениям, которые происходят в молекуле альбумина.

Проведенный анализ показал, что молекулы зонда CAPIDAN первого типа ( $\tau_1$  около 9 ns) практически стационарны в их связывающем центре, молекулы второго типа ( $\tau_2$  около 3 ns) проявляют медленное тепловое движение, тогда как молекулы зонда CAPIDAN третьего типа ( $\tau_3$  около 1 ns) движутся довольно быстро в своем связывающем центре. Это означает, что степень свободы теплового движения молекул зонда CAPIDAN в этих центрах очень сильно отличается друг от друга [9].

Необходимо указать, что если величины каждой амплитуды в уравнении, представленном выше, изменяются при различных экспериментальных условиях (например, при изменении величин молярного отношения зонд/альбумин или при изменениях ионной силы раствора), то различия в отношениях времен  $\tau_1/\tau_2$  и  $\tau_2/\tau_3$  не превышают 10–20%.

Полученные данные показали, что использование новых технологических подходов, в нашем случае субнаносекундная флуоресцентная спектроскопия с флуоресцентным зондом CAPIDAN, позволяет выявить очень тонкие нарушения в молекуле альбумина. Применение разрешенной во времени флуоресцентной спектроскопии позволяет при различных условиях дифференцировать различия в флуоресцентных сигналах зонда CAPIDAN, связанного с различными связывающими центрами на молекуле альбумина.

Использование такого подхода дает возможность выявить изменения в состоянии трех связывающих центров альбумина у больных МД по сравнению с состоянием этих центров у здоровых контролей, что невозможно выявить методом стационарной флуоресцентной спектроскопии. Эти изменения указывают, что меланхолическая депрессия сопровождается нарушениями конформации альбумина, что может влиять на функциональные свойства альбумина.

Таким образом, стало возможным детектировать однонаправленные изменения в структуре альбуминовой молекулы у больных с МД на фоне

терапии. Различия между амплитудами затухания флуоресценции до и после лечения составляли 15–20% и находились на достоверном уровне 1%. Значения изменений достоверно фиксируются. Это привело к заключению, что описанный метод может рассматриваться как потенциально полезный для объективной оценки эффективности фармакотерапии, тогда как изученные параметры могут служить в качестве потенциального биомаркера.

Результаты настоящего исследования и данные наших предыдущих работ указывают, что шизофрения и различные типы депрессий сопровождаются различными конформационными нарушениями молекулы альбумина. Так, при тревожной депрессии [17] и первом эпизоде шизофрении [18] все амплитуды  $A_i$  до начала лечения были достоверно ниже по сравнению с контролем. Однако при меланхолической депрессии до начала лечения, как было установлено в настоящем исследовании, величины амплитуд были достоверно выше, чем у контролей. Причина таких различий для нас пока не ясна.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследований указывают, что меланхолическая депрессия сопровождается конформационными изменениями молекулы альбумина, что может повреждать его функциональные свойства. Мы полагаем, что изученные параметры могут служить в качестве потенциальных биомаркеров для оценки эффективности психофармакотерапии.

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Внешнее финансирование отсутствует

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

*Конфликт интересов.* Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

*Этическое одобрение.* Исследование проводилось в соответствии с Хельсинкской декларацией о медицинских исследованиях с участием людей и заключением локального этического комитета Московского научно-исследовательского института психиатрии (№ 16, 13.03.2017).

*Информированное согласие.* Все больные и здоровые добровольцы дали информированное согласие на участие в исследовании.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kreisel T., Frank M.G., Licht T., Reshef R., Ben-Menachem-Zidon O., Baratta M.V., Maier S.F., Yirmiya R.* // Mol. Psychiatry. 2013. V. 10. P. 155–163.
2. *Kessler R.C., Ustun T.B.* (Eds.): The WHO World Mental Health Surveys: Global perspectives on the epidemiology of mental disorders. New York: Cambridge University Press. 2008.
3. *Краснов В.Н.* // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2012. Т. 112. С. 3–11.
4. *Uzbekov M.G.* // Biochemistry (Moscow). 2021. V. 86. № 6. P. 773–783
5. *Grieve S.M., Korgaonkar M.S., Etkin A., Harris A., Koslow S.H., Wisniewski S., Schatzberg A.F., Nemeroff C.B., Gordon E., Williams L.M.* // Trials. 2013. V. 14. P. 224–232.
6. *Лопухин Ю.М., Добрецов Г.Е., Грызунов Ю.А.* // Бюлл. экпер. биол. мед. 2000. Т. 130. С. 615–619.
7. *Prusiner S.B.* // Proc Natl Acad Sc. 1998. V. 95. P. 13363–13383.
8. *Uzbekov M.G., Misionzhnik E.Yu., Gurovich I.Y., Shmukler A.B.* // Acta Neuropsychiatrica. 2013. V. 25. P. 268–274.
9. *Dobretsov G., Syrejschikova T., Smolina N., Uzbekov M.* // Human Serum Albumin / Ed. Stokes T. New York: Nova Science Publishers, 2015. P. 129–171.
10. *Узбеков М., Добрецов Г., Сырейщикова Т., Смолина Н.* // Современные медицинские технологии. 2011. Т. 6. С. 68–71.
11. *Hamilton M.* // Handbook of Anxiety Disorders / Eds. Last C., Hersen M. Oxford: Pergamon Press, 1988. P. 143–155.
12. *Сырейщикова Т.И., Смолина Н.В., Узбеков М.Г., Добрецов Г.Е., Калинина В.В., Крюков В.В., Антипова О.С., Емельянова И.Н., Краснов В.Н.* // Журн. неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. 2015. Т. 115. С. 47–50.
13. *Gryzunov Yu.A., Dobretsov G.E.* // Protein Conformation: New Research / Ed. Roswell L.B. New York: Nova Publ., 2008. P. 125–159.
14. *Syrejschikova T.I., Gryzunov Yu.A., Smolina N.V., Komar A.A., Uzbekov M.G., Misionzhnik E.Yu., Maximova N.M.* // Laser Physics. 2010. V. 20. P. 1074–1078.
15. *Dobretsov G.E., Gryzunov Yu.A., Syrejschikova T.I., Smolina N.V.* // J. Fluorescence. 1998. V. 8. P. 27–35.
16. *Dobretsov B., Polyak N., Smolina T., Babushkina T., Syrejschikova T., Klimova V., Sverbil A., Peregodov Yu., Gryzunov O. and Sarkisov J.* // Photochem. Photobiol. A Chem. 2013 V. 251. P. 134–140.
17. *Uzbekov M., Syrejschikova T., Smolina N., Maximova N., Shikhov S., Brilliantova V.* // Biomed. J. Sci. Tech. Res. 2019. V. 21. P. 16103–16105.
18. *Uzbekov M., Brilliantova V., Shikhov S., Syrejschikova T., Dobretsov G., Maximova N.* // European Neuropsychopharmacology. 2019. V. 29. P. S96–S97.

## Investigation of Serum Albumin Conformational Changes in Melancholic Depression under Pharmacotherapy Using Subnanosecond Fluorescent Spectroscopy

M. G. Uzbekov<sup>a</sup>, N. V. Smolina<sup>a</sup>, T. I. Syrejschchikova<sup>b</sup>,  
V. V. Brilliantova<sup>a</sup>, G. E. Dobretsov<sup>c</sup>, and S. N. Shikhov<sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Moscow Research Institute of Psychiatry, Moscow, Russia*

<sup>b</sup> *Lebedev Physic Institute of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia*

<sup>c</sup> *Research and Clinical Center of Physic-Chemical Medicine, Moscow, Russia*

The aim of the study was to investigate the serum albumin conformation in patients with melancholic depression. There were investigated 22 patients with melancholic depression and 54 healthy volunteers. Patients with melancholic depression were investigated in dynamics of the antidepressive therapy (venlafaxine – 75–150 mg/daily): at admission, on 15th and 30<sup>th</sup> days. Subnanosecond laser time resolved fluorescence spectroscopy with K-35 fluorescent probe (dimethylaminonaphthalic acid N-carboxyphenylimide, CAPIDAN) was used for the investigation of albumin conformation. There were revealed in controls 3 binding site for the probe on albumin molecule with decay times of 1, 3 and 9 nanoseconds (amplitudes  $A_3$ ,  $A_2$  and  $A_1$ , respectively). The mean amplitudes  $A_3$ ,  $A_2$ , and  $A_1$  in the serum albumin of patients with melancholic depression were significantly higher than in controls ( $p = 0.025$ ). After antidepressive therapy with venlafaxine there was revealed that all three amplitudes significantly decreased and were equal to the amplitudes of controls. We can hypothesize that investigated parameters can serve as potential biomarkers for the evaluation of the efficacy of the psychopharmacotherapy.

*Keywords: serum albumin, binding sites, CAPIDAN fluorescent probe, laser, time-resolved spectroscopy, melancholic depression, pharmacotherapy*