

УДК 612.821.7

## ДЕПРЕССИВНОПОДОБНОЕ СОСТОЯНИЕ И СОН У ЛАБОРАТОРНЫХ МЫШЕЙ

© 2008 г. Т. В. Стрекалова, Р. Сеспульо, В. М. Ковальзон

*United Technologies, Аахен, Германия, Университет Маастрихта, Маастрихт, Голландия,  
Университет им. Клода Бернара, Лион, Франция, Институт проблем экологии и эволюции  
им. А.Н.Северцова РАН, Москва,  
e-mail: kovalzon@sevin.ru*

Поступила в редакцию 19.02.2008 г.

Принята в печать 09.06.2008 г.

В течение 1 мес. проводили комбинированное стрессовое воздействие на группу мышей с целью индукции ключевого симптома депрессии – состояния, подобного агедонии человека, проявляющегося в снижении предпочтения сладкого раствора обычной воде. Использованное нами хроническое стрессовое воздействие вызывает агедонию у 50–70% мышей линии C57BL/6, тогда как остальные животные не проявляют депрессивноподобных изменений. Затем животным под общим наркозом вживляли хронические электроды для записи электрокортикограммы и электромиограммы. После 2-недельного периода восстановления вновь стрессировали мышей в течение 5 дней с целью реиндукции агедонии. Далее в течение недели проводили непрерывную регистрацию электрокортикограммы и электромиограммы у животных трех групп: стрессированных агедоничных, стрессированных неагедоничных и контрольных в условиях 12-часового режима свет – темнота. Результаты показали значительные изменения циркадной ритмики (сдвиг акрофазы бодрствования, медленноволнового и парадоксального сна влево по оси времени), небольшое, но статистически значимое снижение суммарной длительности медленноволнового сна в темный период суток, а также значительное увеличение суммарной длительности парадоксального сна в светлый период суток у агедоничной группы по сравнению с неагедоничными и контрольными особями. Выявленные изменения структуры сна у агедоничной группы мышей частично сходны с теми, которые наблюдаются у больных депрессией, что свидетельствует в пользу адекватности использованной модели.

*Ключевые слова: депрессия, экспериментальные модели депрессии, стресс, агедония, сон.*

## Depressive-Like State and Sleep in Laboratory Mice

T.V. Strekalova, R. Cespuoglio, V.M. Kovalzon

*United Technologies, Aachen, Germany; University of Maastricht, Maastricht, The Netherlands;  
Claude-Bernard University, Lyon, France; Severtsov Institute of Ecology and Evolution,  
Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia,  
e-mail: kovalzon@sevin.ru*

In order to induce the state of anhedonia, a key symptom of depression, mice were subjected to a one-month stress procedure comprised of various stressors. Anhedonic state was defined by a reduction of preference for sucrose solution over tap water. Conventional cortical and neck-muscle electrodes were implanted to control and stressed animals under chloral-hydrate anesthesia. After a two-week recovery and habituation period, mice from chronically stressed group were re-subjected to five-day stress, and the anhedonic state was verified. As not all the stressed mice displayed a decrease in sucrose preference, animals were divided in two groups: stressed-non-anhedonic and stressed-anhedonic animals. Seven-day continuous polygraphic recording was carried out in animals from both stressed groups and the control group in recording chambers under conditions of 12/12-hour light/dark schedule. The anhedonic mice demonstrated a significant advanced shift in circadian distribution of paradoxical sleep and increased amount of paradoxical sleep during the light period. In the course of the dark period, the anhedonic group showed a slight but significant decrease in total amount of slow-wave sleep as compared to the non-anhedonic and control groups. The results suggest that the changes in sleep structure documented in the model of anhedonia are similar to those described for human depression.

*Key-words: depression, experimental models of depression, stress, anhedonia, sleep.*

Депрессия является тяжелым заболеванием, распространяющимся более чем на 12% населения экономически развитых стран; более 15% популяции испытывают состояние клинической депрессии минимум раз в жизни. К 2020 г. депрессия может стать второй по частоте причиной нетрудоспособности в мире [14]. В России проблема заболеваемости и смертности в связи с депрессивными расстройствами приобрела особую значимость из-за колоссальных социальных потрясений последних десятилетий [20]. По некоторым данным, жалобы на подавленное настроение предъявляются участковым врачам со стороны их пациентов чаще, чем все прочие жалобы, вместе взятые [4]. С другой стороны, лишь половина больных депрессией отвечает объективным улучшением своего состояния и снижением жалоб в ответ на современные медикаментозные и нелекарственные методы лечения [14]. Все это предполагает высокую социальную ценность исследований биологических основ этого заболевания.

Согласно международной диагностической системе психиатрических заболеваний DSM IV-TR диагностика клинической депрессии основана на выявлении по меньшей мере одного из ключевых симптомов этого заболевания, наблюдаемого на протяжении как минимум 2 недель и, как правило, сопровождаемого второстепенными симптомами. Агедония, или сниженная способность воспринимать положительные стимулы, и подавленное (депрессивное) настроение считаются основными симптомами этого недуга [14]. Состояние агедонии, с одной стороны, является одним из основных признаков депрессии, а с другой – состояние, сходное по ряду внешних признаков с агедонией человека, может быть вызвано и оценено у лабораторных грызунов [3, 29]. Поэтому дефицит восприятия приятных стимулов может рассматриваться как основополагающее требование к моделям депрессии на животных, без которых невозможно фундаментальное изучение природы этого заболевания и поиск эффективных средств его предупреждения и лечения [28].

Среди различных экспериментальных подходов хронический стресс является наиболее разработанным способом индукции агедонии у грызунов [11, 18, 27, 29]. Было предложено несколько парадигм для оценки чувствительности к положительным воздействиям у животных, среди них тесты потребления сахара и сахарина, модели самораздражения и тому по-

добное, а также тесты предпочтения обследования нового объекта и кондиционирования места [7, 29].

Тест потребления сахара/сахарина широко используется для оценки состояния, сходного с агедонией человека, в моделях хронического стресса. Считается, что снижение предпочтения раствора сахара/сахарина и снижение их потребления указывают на состояние агедонии у крыс [13] и мышей [8, 17, 26]. Выявление противодействия антидепрессантов развитию стресс-индуцированной агедонии рассматривается многими авторами как критерий валидности моделей депрессии на животных [10, 12], хотя другими авторами это ставится под сомнение [19].

В течение последних лет нами (Т.В. Стрекалова и соавт. [25–27]) была разработана новая модель хронического стресса на мышах, представляющая собой комбинацию нескольких стрессорных процедур, повторяющихся на протяжении 4-недельного периода [26]. Эта модель позволяет устранить один из существенных недостатков ранее предложенных парадигм стресс-индуцированного депрессивноподобного состояния у животных [17], а именно, хорошо известно, что далеко не все последствия стресса связаны с депрессивными нарушениями. Однако имеющиеся модели хронического стресса не позволяли отделить *неспецифические* для данной модели эффекты стресса, используемого для индукции состояния агедонии, от вызванных им собственно *депрессивноподобных* изменений, что значительно затрудняло исследование физиологических коррелятов этих феноменов. В нашей модели примененный хронический стресс вызывает агедонию, определяемую по снижению предпочтения раствора сахара, лишь у *части* животных, тогда как остальные животные, подвергшиеся стрессу, не проявляют этого эффекта. Примененный в условиях нашей экспериментальной парадигмы отдельный анализ неагедоничной группы мышей обеспечивает внутренний контроль тех эффектов хронического стресса, которые *не связаны* с агедонией и депрессивноподобным состоянием животных, что позволяет изучать эти феномены изолированно от неспецифических эффектов стресса.

Дальнейшие исследования показали, что именно состояние агедонии, а не хронического стресса вообще, связано с присутствием ключевых поведенческих признаков депрессивноподобного состояния у мышей [5, 17]. К таким относятся, в частности, увеличение про-

должительности неподвижного зависания (так называемого флоатинга) в тесте вынужденного плавания, измененная суточная активность, нарушение гиппокампальной пластичности, сниженное обследование новых объектов и увеличение иммобилизации в тесте подвешивания за хвост [25, 26]. Другие нарушения, такие как стресс-индуцированная гиперактивность и повышение тревожности, развиваются у хронически стрессированных мышей вне зависимости от присутствия агедонии. Таким образом, поведенческие признаки агедонии и стресса как такового могут быть разграничены и проанализированы по отдельности в нашей модели. Корреляция снижения предпочтения раствора сахара с появлением других депрессивноподобных поведенческих изменений и прежде всего увеличения продолжительности флоатинга, предполагает физиологическую значимость применения выбранного критерия агедонии в нашей модели депрессии. Эти данные позволяют полагать, что снижение предпочтения раствора сахара действительно отражает депрессивноподобное состояние у животных, что поддерживает исходную трактовку данного феномена [13, 30].

Другие ранние и специфичные признаки эндогенной депрессии – это нарушения структуры сна [2, 24]. Они представлены такими характеристиками, как укорочение латентного периода парадоксального сна (ПС) в I цикле ночного сна, увеличение доли ПС в первую половину ночи и ее уменьшение – во вторую (в противофазе с нормальным распределением ПС у человека), смещение циркадного ритма, фрагментация сна. Кроме того, хорошо известно, что такие больные испытывают наибольшие страдания непосредственно после пробуждения в утренние часы, а к вечеру их состояние значительно улучшается, вплоть до полного исчезновения депрессивных симптомов. Депривация всего сна или ПС у них приводит к ослаблению депрессивных проявлений, а спонтанное засыпание, даже кратковременное – к их возобновлению [6]. С другой стороны, в соответствии с теорией аминергической природы эндогенной депрессии фармакологическое лечение подобных больных направлено главным образом на повышение уровня мозгового серотонина и норадреналина путем подавления их обратного захвата и деградации; как известно, все антидепрессанты подавляют также и ПС [9]. Существенно, что именно ПС является тем состоянием, при котором *полностью прекращается* актив-

ность аминергических нейронов головного мозга – норадренергических в области синего пятна, серотонинергических в области дорзальных ядер шва, гистаминергических в туберомамиллярных ядрах заднего гипоталамуса – и выделение соответствующих медиаторов, вследствие чего уровень мозговых аминов последовательно снижается в ходе каждого периода ПС [2]. Характерно, что нарушения сна появляются в анамнезе больных еще до наступления клинических эмоциональных сдвигов.

Цель настоящей работы состояла в том, чтобы выяснить, связана ли вызванная хроническим стрессом агедония у мышей со специфическими нарушениями суточного ритма и структуры сна – бодрствования, характерными для депрессивных состояний.

## МЕТОДИКА

### Использованные животные и их содержание

Мы использовали инбредных мышей-самцов массой 30–35 г линии C57BL/6 в возрасте 3.5 мес., которые за 2 недели до начала экспериментов были рассажены поодиночке. Животные содержались в условиях реверсивного режима освещения 12:12 ч (свет включался в 21:00 и выключался в 9:00) в стандартных лабораторных условиях (температура в комнате  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ , влажность 55%, вода и корм доступны постоянно). Самцы линии CD1, были предназначены для тестирования в тесте социального взаимодействия в качестве интродеров (см. ниже). Исходным источником обеих линий мышей был виварий фирмы Charles River, где животные содержались в условиях, идентичных с нашими. Все эксперименты были выполнены в соответствии с рекомендациями по гуманному обращению с лабораторными животными, утвержденными соответствующими комитетами (комиссиями) всех участвующих в работе институтов.

### Общие условия проведения эксперимента

За 2 недели до начала хронического стресса у всех мышей были изучены параметры в тесте социального взаимодействия, как было описано ранее [26]. Были определены исходное предпочтение 1%-ного раствора сахара (см. раздел “Тест предпочтения раствора сахара”) и масса тела. Контрольная и экспериментальная группы были сбалансированы по показателям начальных значений предпочте-

ния раствора сахара и массы тела животных. Поскольку характеристики социального статуса являются фактором индивидуальной предрасположенности к стресс-индуцированной агедонии, как было установлено ранее [26], все группы животных, используемых в эксперименте, были сформированы так, чтобы обеспечить в них равный процент агрессивных, неагрессивных и социально нейтральных (неопределимых по социальному поведению) особей.

14 мышей составили группу стресса и 7 животных – контрольную нестрессированную группу. Процент агрессивных, неагрессивных и социально нейтральных особей был сходным в обеих группах.

Процедура хронического стресса состояла в экспозиции животных трем видам стресса (в пяти версиях) в течение 4-недельного периода (см. раздел “Процедура хронического стресса”). Кроме определения уровня предпочтения раствора сахара в исходных условиях этот тест был выполнен через 4 недели стресса; по его окончании животные были классифицированы либо как агедоничные, либо неагедоничные, как описано ниже.

По окончании тестирования животных, подвергавшихся стрессу, а также контрольных животных оперировали под хлорал-гидратным наркозом (0.45 г/кг, внутривенно) для рутинной установки четырех электродов в виде крошечных шурупов для биполярной регистрации электроэнцефалограммы (электрокортикограммы – ЭКОГ – два симметричных электрода над сенсомоторной корой и два – над зрительной), а также один биполярный в виде изолированной полиэтиленом проволоки из нержавеющей стали – для регистрации электромиограммы (ЭМГ) мышц шеи. Через 2 недели после операции животных помещали в индивидуальные камеры для регистрации полиграммы и для восстановления состояния агедонии вновь в течение 5 дней подвергали хроническому стрессу с помощью ежедневно двукратного подвешивания за хвост (см. далее). По завершении стрессирования проводили тест предпочтения раствора сахара. Через 2 сут после тестирования начинали непрерывную цифровую полиграфическую регистрацию (с помощью специальной программы), продолжавшуюся 7 сут. По окончании регистрации вновь проводили тест предпочтения раствора сахара. Полиграммы обрабатывали вручную по общепринятым критериям по 10-секундным эпохам анализа, определяли состояния бодрствования (Б), медленноволнового сна (МС) и

парадоксального сна (ПС) за каждый час записи у каждой из трех групп животных – агедоничных, неагедоничных и контрольных. Латентный период ПС отмечали от момента включения или выключения света каждые 12 ч записи.

### Процедура хронического стресса

Процедура хронического стресса длилась 4 недели. Стрессоры были применены в следующей последовательности: дни 1–7 – непрерывная экспозиция крысы в клетках с мышами; дни 8–10 – 2-часовой стресс ограничения подвижности в пластиковых контейнерах; дни 11–17 – периодическая экспозиция крысы в контейнерах; дни 18–19 – комбинированный стресс ограничения подвижности и водной иммерсии; дни 20–22 – применяли два стрессора: комбинированный стресс ограничения подвижности и водной иммерсии + 2-часовой стресс ограничения подвижности в пластиковых контейнерах; день 23 – стресс подвешивания за хвост, применяли дважды в день; дни 24–26 – были применены два стрессора: стресс подвешивания за хвост + комбинированный стресс ограничения подвижности и водной иммерсии; дни 27–28 – были применены два стрессора: стресс подвешивания за хвост + 2-часовой стресс ограничения подвижности. В дни 20–28 стрессоры применяли то в прямом, то в обратном порядке.

*Непрерывная экспозиция крысы мышей в клетках.* Мышь содержалась вместе с крысой, для чего крысу помещали в небольшую клетку (22 × 8.5 × 14 см), которую затем ставили в “домашнюю” клетку крысы (38 × 22 × 15 см). Для дополнительной защиты мыши от крысы применяли металлические сетчатые покрытия. Вода и пища были доступны постоянно.

*Экспозиция крысы мышей в контейнерах.* Мышей в прозрачных цилиндрических контейнерах (высота 15 см, диаметр 8 см) помещали в клетку с крысой на увеличивающиеся интервалы времени, начиная с 3-часового периода и заканчивая 12-часовым (12-часовые экспозиции выполняли между 21:00–9:00).

*Ограничение подвижности в пластиковых контейнерах.* Животных помещали в цилиндрические пластиковые контейнеры (внутренний диаметр 26 мм) на 2 ч в светлое время суток. Использовали мягкую бумагу для дополнительного ограничения двигательной подвижности мышей.

*Комбинированный стресс ограничения подвижности и водной иммерсии.* Протокол этого вида стресса основан на ранее предложенных методах индуцирования гипотермии [15, 23]. Животных помещали в пластиковые контейнеры с внутренним диаметром 26 мм, в которых они могли совершать ограниченные движения. Эти пластиковые трубки затем ставили в вертикальном положении в пустую емкость (35 × 22 × 15 см), которую медленно заполняли водой при температуре 21°C на 10 мин, так что тела мышей были погружены в воду до уровня середины грудины (наполовину). По окончании процедуры стресса за животными наблюдали в течение 30 мин.

*Стресс подвешивания за хвост.* Эту процедуру выполняли согласно ранее описанному протоколу [25]. Мышей подвешивали за хвост на период около 20 мин. Данный стресс применяли в светлый период суток.

### Тест предпочтения раствора сахара

Была использована модифицированная процедура теста, разработанная с целью преодоления некоторых методических недостатков предыдущих вариантов этого теста [22]. Мыши получали 10-часовой доступ (между 9:00–19:00) к свободному выбору между двумя питьевыми бутылками: одной с раствором сахара и другой – с обычной водой. С целью минимизации возможных артефактов в оценке питьевого поведения вследствие эффекта индивидуального предпочтения левого или правого положения бутылки их положение чередовали через 5 ч. Депривация воды и пищи исключалась перед процедурой тестирования. Для снижения потерь жидкостей во время тестирования бутылки заполняли заранее и держали в перевернутом положении по меньшей мере 12 ч перед началом теста в той же лабораторной комнате, где проводили эксперимент. Это позволяло обеспечить необходимый баланс температур между растворами и воздухом. С целью снижения межиндивидуальной вариабельности в потреблении раствора сахара во время первого теста предпочтения (при определении исходных показателей в этом тесте) накануне животные получали 2-часовой доступ к 2.5%-ному раствору сахара; 1%-ный раствор сахара был использован во всех проведенных тестах.

Потребление воды, раствора сахара и общее потребление жидкости определяли путем взвешивания бутылок, одновременно у кон-

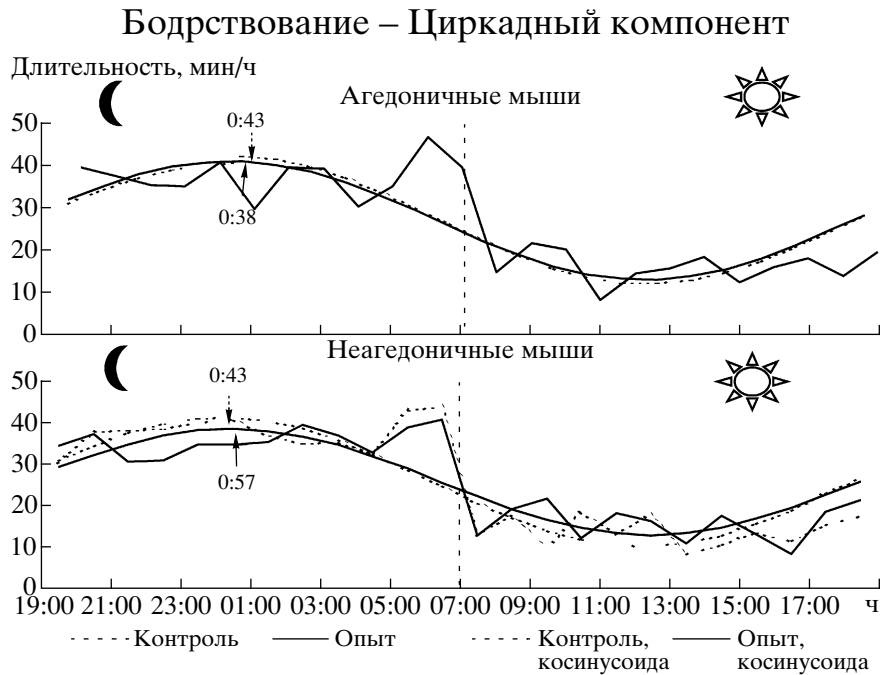
трольной и стрессированной групп мышей. Предпочтение раствора сахара вычисляли в виде процента количества потребленного раствора сахара от общего объема выпитой жидкости. Снижение предпочтения к раствору сахара до значения 65% или ниже, определенное после 4 недель стресса, принимали за критерий развития агедонии. Основываясь на избранном критерии, мышей распределяли в группы неагедоничных и агедоничных.

Применение данного критерия базируется на том факте, что ни одно из контрольных животных *не проявляет* в момент измерения предпочтения к раствору сахара, меньшего или равного 65%. Кроме того, наши предыдущие данные [26] показали, что мыши, отвечающие избранному критерию, т.е. *проявляющие* менее, чем 65%-ное предпочтение раствора сахара, демонстрируют синдром депрессивноподобного поведения, состоящего в повышении продолжительности поведения флотинга и снижении исследовательской активности, в то время как у остальных стрессированных животных с неизменным предпочтением раствора сахара такие изменения в поведении не наблюдаются.

### Параметры теста предпочтения раствора сахара и масса тела во время стресса

Динамику изменения предпочтения к раствору сахара, потребления воды и раствора сахара, общего потребления жидкости и массы тела в ходе хронического стресса сравнивали между неагедоничными и агедоничными животными из указанных экспериментальных групп.

*Статистический анализ данных.* В итоговую выборку в группу агедоничных животных были включены только те особи, которые показали сниженное предпочтение раствора сахара во всех тестированиях, кроме самого первого, исходного ( $n = 7$ ). Результаты сравнивались с неагедоничной группой ( $n = 7$ ) и контрольной группой животных, не подвергавшейся стрессу ( $n = 7$ ). Данные были проанализированы с помощью программы Graph Pad Prism V4 (GraphPad Software, SanDiego, CA, USA). Применяли аппроксимацию данных на косинусоиду [16] и непараметрические методы анализа независимых переменных в трех группах. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью дисперсионного анализа Крускал – Уоллиса, дополненного U-критерием Манна – Уитни для непарных выборок.



**Рис. 1.** Бодрствование (Б) – циркадный компонент. Изменения положения акрофазы Б под воздействием стресса у агедоничных и неагедоничных животных по сравнению с контролем. Полумесяцем обозначен темный период суток, солнцем – светлый. По оси абсцисс – время суток; по оси ординат – продолжительность Б в минутах за каждый час записи. Ломаные линии – усредненные реальные данные экспериментов, гладкие кривые – аппроксимирующая косинусоида. Сплошные линии – опыт, пунктирные – контроль. Вертикальная жирная пунктирная линия посередине рисунка – момент включения света в камере. Объяснение в тексте.

**Fig. 1.** Waking – circadian component. Stress induced changes in waking acrophase position in anhedonic and non-anhedonic rats as compared to the controls. Dark period is specified by the crescent, light period – by the sun. Abscissa axis – time of the day. Ordinate axis – waking in minutes for each hour of recording. Broken lines – mean real data; smooth curves – approximating cosines. Solid lines – experiments; dotted lines – controls.

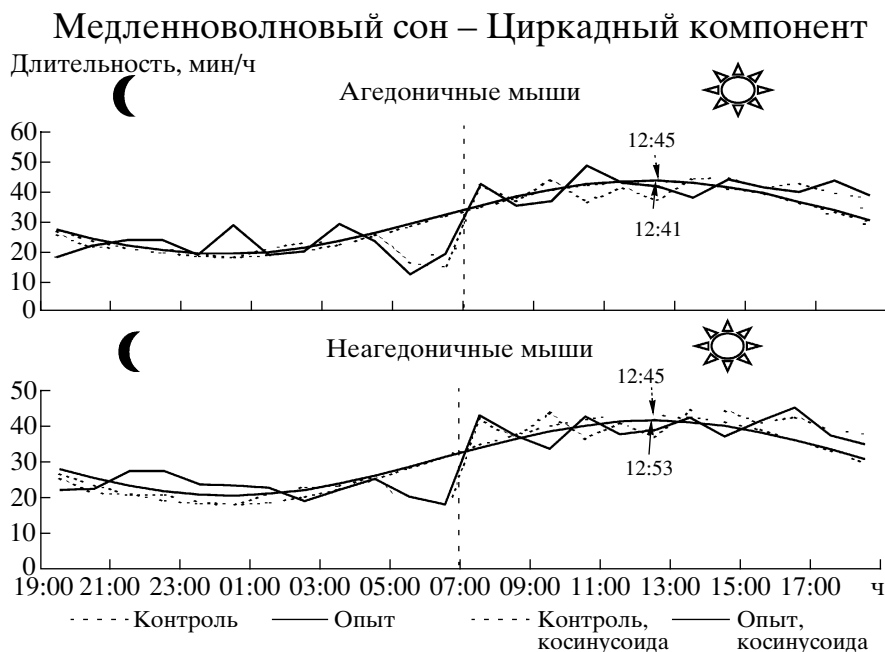
Множественный регрессионный анализ выполнялся посредством множественных R и F тестов. Качественные данные оценивали по точному методу Фишера. Данные рассчитывали как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

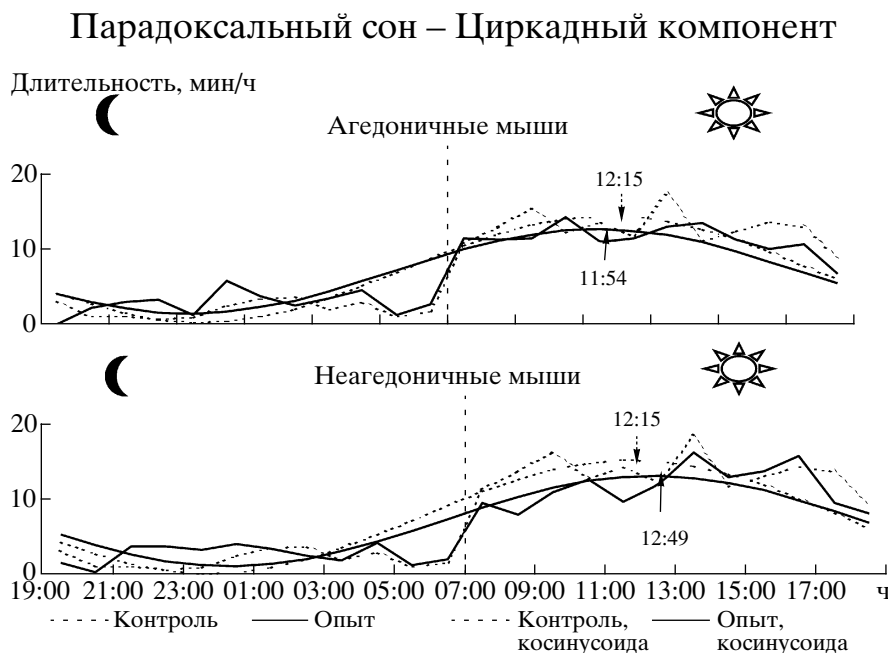
На рис. 1–3 представлены циркадные ритмы почасовой представленности Б, МС и ПС неагедоничных и агедоничных мышей по отношению к контрольной группе животных, не подвергавшейся стрессу. Демонстрируются усредненные кривые, но для упрощения рисунков не показаны стандартные ошибки. Как видно из рис. 1, аппроксимация полученных данных на косинусоиду выявила, что в темный период суток пик активности (акрофаза) у контрольных животных приходился на 00 ч 43 мин (пунктирные стрелки), у неагедоничных – на 00:57, а у агедоничных – на 00:38 (жирные стрелки). Хотя сдвиг акрофазы по оси абсцисс

влево на 7 мин и вправо на 14 мин у агедоничных и неагедоничных мышей соответственно по отношению к контрольным крысам был недостоверен, однако различие между агедоничными и неагедоничными мышами было статистически значимо (21 мин;  $p < 0.05$ ; критерий U). Таким образом, выявлен достоверный сдвиг акрофазы 12-часового ритма Б у агедоничных мышей на 21 мин влево по оси абсцисс (так называемый advanced shift) по сравнению с неагедоничными.

Рис. 2 демонстрирует сходную закономерность в светлое (неактивное у мышей) время суток по отношению к МС. Здесь акрофаза циркадного ритма у агедоничных мышей сдвинута на 4 мин влево по оси ординат по отношению к контрольной группе, а у неагедоничных – вправо на 8 мин; в целом ритм покоя и сна (МС) агедоничных мышей по сравнению с неагедоничными особями немного сдвинут влево (на 12 мин;  $p < 0.05$ ; критерий U).



**Рис. 2.** Медленноволновый сон (МС) – циркадный компонент. Обозначения как на рис. 1.  
**Fig. 2.** SWS – circadian component. Designations: see fig.1.



**Рис. 3.** Парадоксальный сон (ПС) – циркадный компонент. Обозначения как на рис. 1.  
**Fig. 3.** PS – circadian component. Designations: see fig.1.

Из рис. 3 видно значительное и статистически значимое смещение акрофазы циркадного ритма ПС на 21 мин влево по оси абсцисс у агедоничной группы мышей и на 34 мин вправо – у неагедоничной группы по сравнению с контролем. В целом различия между двумя экспериментальными группами мышей, подвергав-

шимся одному и тому же стрессу, но по-разному реагирующими на него, было высокостатистически значимо (55 мин,  $p < 0.01$ ; критерий U).

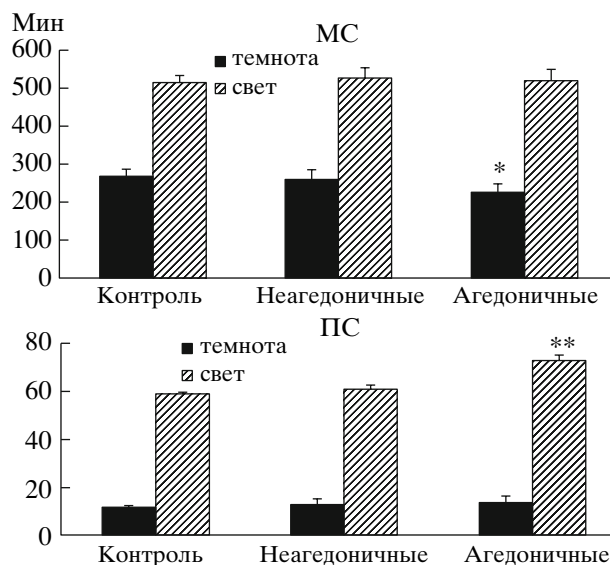
Рис. 4 демонстрирует структуру сна за 12 ч в целом у трех групп мышей. Видно, что стресс сам по себе не оказывал в условиях данного

эксперимента заметного влияния на структуру сна. Суммарная длительность МС и ПС ни в светлый, ни в темный период суток не различалась существенно между контрольной группой, не подвергавшейся стрессу, и неагедоничной группой, устойчивой по отношению к вызванным стрессом эмоциональным нарушениям. Наоборот, *агедоничная* группа демонстрировала явные изменения структуры сна по сравнению с неагедоничной: небольшое, но статистически значимое снижение суммарной длительности МС в темное время суток (примерно на 10%), а также значительное (примерно на 20%) и высокостатистически значимое увеличение суммарной длительности ПС за 12-часовой светлый период в камере.

На рис. 5 показан латентный период первого эпизода ПС у контрольных, стрессированных неагедоничных и стрессированных агедоничных мышей. Видно, что в светлый период суток этот показатель не менялся. В то же время в темный, активный период он претерпевал статистически незначимое увеличение (примерно на 1/3 по сравнению с контролем, NS) у стрессированных неагедоничных мышей. Особенно значительный (почти в 2.5 раза по сравнению с контролем и на 90% по сравнению с неагедоничной группой) и высокостатистически значимый ( $p < 0.01$ ; критерий U) подъем отмечался у стрессированных агедоничных мышей.

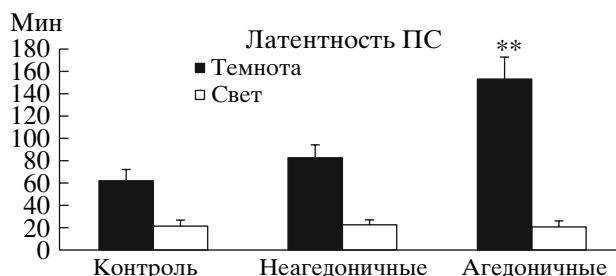
## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Взаимосвязь между стрессом и сном – одна из самых неясных и запутанных проблем в текущей литературе. Вообще говоря, слабые и кратковременные стрессоры, влияющие в первую очередь на опиоидную и симпато-адреналовую системы, вызывают в некоторых моделях увеличение ПС. В то же время более сильные и/или длительные воздействия, активирующие ось гипоталамус – гипофиз – кора надпочечников, как правило, подавляют ПС [21]. Однако ряд исследователей полагают, что ведущую роль при этом играет не столько характер стрессора, сколько способ реагирования стрессируемого субъекта [1]. Результаты настоящей серии исследований с несомненностью свидетельствуют в пользу этой точки зрения. Здесь одинаковые генотипически и выровненные по социальному статусу группы мышей подвергались одним и тем же сложным, разнообразным и длительным сильным воздействиям, в результате которых у большинства особей снижалось предпочтение сладкого раствора обычной воде, что трактуется как разви-



**Рис. 4.** Изменения суммарной продолжительности медленноволнового сна (МС) и парадоксального сна (ПС) в минутах (по вертикали) за 12 ч темного и светлого периода суток у трех групп мышей; различие между агедоничной группой, с одной стороны, и неагедоничной и контрольной группами – с другой; \* –  $p < 0.05$ ; \*\* –  $p < 0.01$ ;  $n = 7$ ; критерий U.

**Fig. 4.** Changes in mean total representation of SWS (upper trace) and PS (down trace) in min (ordinate axis) for 12 hr dark and light periods of the day in 3 groups of mice; \* –  $p < 0.05$ ; \*\* –  $p < 0.01$ ;  $n = 7$ ; U-test.



**Рис. 5.** Изменение латентного периода ПС в темное и светлое время суток у трех групп мышей. Обозначения как на рис. 4.

**Fig. 5.** Changes in mean latency period of PS during dark and light periods in 3 groups of mice. Designations: see fig. 4.

тие агедонии – признака депрессивноподобного состояния. Аналогичные данные относительно вариабельности использованной линии мышей в развитии стресс-индуцированного депрессивноподобного состояния были получены в других работах [17]. Однако меньшая часть (25–30% от общего числа животных) и в этих условиях проявляют эмоциональную устойчивость и сохра-



няют предпочтение сладкого раствора. Показано [25], что агедоничные мыши проявляют бóльшую пассивность в тесте вынужденного плавания, что свидетельствует в пользу предположения об “отказе от поиска” у этой группы животных в отличие от неагедоничных мышей, у которых поисковая активность, видимо, сохраняется. С какими фенотипическими факторами связаны эти принципиальные поведенческие различия и как эти факторы формируются в ходе индивидуального развития – это важнейшие вопросы, от ответа на которые зависит дальнейшая разработка адекватных экспериментальных моделей депрессии, поиск путей и способов предотвращения и лечения этого заболевания.

Другой важнейший вопрос для понимания природы депрессии – это что является первичным, а что вторичным в этом заболевании. Является ли снижение уровня мозгового серотонина, норадреналина и дофамина, повышение уровня кортизола, АКТГ и кортиколиберина, повышение “давления” ПС, разрушение клеток гиппокампа и так далее *причиной* или *следствием* эмоционально-психических нарушений – подавленного настроения и агедонии [2]? Поскольку нарушения структуры сна возникают до появления первых психических симптомов депрессии, их можно с достаточным основанием рассматривать как отражение причинных факторов эмоциональных нарушений. Эти факторы, по-видимому, представляют собой какие-то еще неизвестные биохимические сдвиги, из-за которых возникает своего рода “функциональная неполноценность” либо бодрствования (и повышение потребности в парадоксальном сне для его компенсации), либо самого парадоксального сна [1]. В результате происходит компенсаторное увеличение представленности (суммарной продолжительности) ПС, особенно заметное в первой половине ночи у больных и в начале светлого периода циркадного цикла у подопытных животных. Что касается самих гипотетических первичных биохимических нарушений, то следует еще раз подчеркнуть естественное истощение мозговых аминов во сне, особенно в ПС, когда выброс этих веществ полностью прекращается. Не исключено, что в каких-то ситуациях такое снижение концентрации мозговых аминов может стать критическим для нормального функционирования мозга в последующем бодрствовании, что приводит к формированию депрессивного состояния.

В целом представленные данные свидетельствуют о валидности примененной моде-

ли депрессивного состояния у человека, хотя необходимо подчеркнуть, что отсутствие укорочения латентного периода ПС на свету и его значительное удлинение в темный период суток (видимо, под влиянием увеличения активности в начале этого периода), на первый взгляд, говорит о противоположном. Следует, однако, иметь в виду существенные различия цикла сон – бодрствование у здорового человека, с одной стороны, и лабораторных грызунов – с другой. Достаточно сказать, что человеку присущ консолидированный ночной сон, а мышам и крысам – раздробленный, бóльшая часть которого приходится на светлое время суток [2]. Поэтому вряд ли стоит в данном случае требовать от модели точного соответствия всем параметрам объекта. Достаточно того, что она позволяет качественно имитировать некоторые наиболее важные характеристики депрессии человека.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Если группу мышей подвергать воздействию хронического комбинированного стресса, то у большей части из них (примерно у 2/3) развивается определенное нарушение поведения, именуемое агедонией, которое заключается в том, что животные изменяют свое исходное питьевое предпочтение. Если исходно животные предпочитают сладкую воду обычной водопроводной, то после стрессирования у агедоничных мышей такое предпочтение исчезает; однако оно сохраняется, несмотря на стресс, у меньшей части животных (неагедоничных). В настоящем исследовании была сделана попытка выяснить, проявляется ли различие этих двух групп мышей в суточном ритме активности – покоя и структуре сна. Обнаружено статистически значимое изменение циркадной ритмики (сдвиг акрофазы влево по оси времени) и значительное увеличение суммарной длительности парадоксального сна в светлый период суток у агедоничной группы по сравнению с неагедоничными и контрольными особями. Выявленные изменения структуры сна у агедоничной группы мышей частично сходны с теми, которые наблюдаются у больных депрессией.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ротенберг В.С.* Адаптивная функция сна. Причины и проявления ее нарушения. М.: Наука, 1982. 175 с.
2. *Adrien J.* Neurobiological bases for the relation between sleep and depression. *Sleep Med. Rev.* 2002. 6(5): 341–351.

3. *Auriacombe M., Reneric J.P., Le Moal M.* Animal models of anhedonia. *Psychopharmacology*. 1997. 134: 337–338.
4. *Averina M., Nilssen O., Brenn T., Brox J.* Social and lifestyle determinants of depression, anxiety, sleeping disorders and self-evaluated quality of life in Russia – a population-based study in Arkhangelsk. *Soc. Psychiatry Psychiatr. Epidemiol.* 2005. 40: 511–518.
5. *Bao A.-M., Meynen G., Swaab D.F.* The stress system in depression and neurodegeneration: Focus on the human hypothalamus. *Brain Res. Rev.* 2008. 57(2): 531–553.
6. *Berger M., van Calker D., Riemann D.* Sleep and manipulations of the sleep-wake rhythm in depression. *Acta Psychiatr. Scand.* 2003. 108 (Suppl. 418): 83–91.
7. *Cryan J.F., Markou A., Lucki I.* Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol. Sci.* 2002. 23: 238–245.
8. *Ducottet C., Aubert A., Belzung C.* Susceptibility to subchronic unpredictable stress is related to individual reactivity to threat stimuli in mice. *Behav. Brain Res.* 2004. 155: 291–299.
9. *El Yacoubi M., Bouali S., Popa D., Naudon L., Leroux-Nicollet I., Hamon M., Costentin J., Adrien J., Vaugeois J.-M.* Behavioral, neurochemical, and electrophysiological characterization of a genetic mouse model of depression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003. 100(10): 6227–6232.
10. *Gambarana C., Scheggi S., Tagliamonte A., Tolu P., De Montis M.G.* Animal models for the study of antidepressant activity. *Brain Res. Brain Res. Protoc.* 2001. 7: 11–20.
11. *Gronli J., Fiske E., Murison R., Bjorvatn B., Sorensen E., Ursin R., Portas C.M.* Extracellular levels of serotonin and GABA in the hippocampus after chronic mild stress in rats. A microdialysis study in an animal model of depression. *Behav. Brain Res.* 2007. 181: 42–51.
12. *Gronli J., Murison R., Fiske E., Bjorvatn B., Sorensen E., Portas C.M., Ursin R.* Effects of chronic mild stress on sexual behavior, locomotor activity and consumption of sucrose and saccharine solutions. *Physiol. Behav.* 2005. 84: 571–577.
13. *Katz R.J.* Animal model of depression: Pharmacological sensitivity of hedonic deficit. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1982. 16: 965–968.
14. *Kessler R.C., Chiu W.T., Demler O., Merikangas K.R., Walters E.E.* Prevalence, severity, and comorbidity of 12-month DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch. Gen. Psychiatry.* 2005. 62: 617–627.
15. *Klenerova V., Jurcovicova J., Kaminsky O., Sida P., Krejčí I., Hlinák Z., Hynie S.* Combined restraint and cold stress in rats: effects on memory processing in passive avoidance task and on plasma levels of ACTH and corticosterone. *Behav. Brain Res.* 2003. 142: 143–149.
16. *Koukkari W.L., Sothorn R.B.* *Introducing Biological Rhythms.* Berlin: Springer. 2006. 577–602 pp.
17. *Krishnan V., Han M.H., Graham D.L., Berton O., Renthall W., Russo S.J., Laplant Q., Graham A., Lutter M., Lagace D.C., Ghose S., Reister R., Tannous P., Green T.A., Neve R.L., Chakravarty S., Kumar A., Eisch A.J., Self D.W., Lee F.S., Tamminga C.A., Cooper D.C., Gershenfeld H.K., Nestler E.J.* Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell.* 2007. 131(2): 391–404.
18. *McArthur R., Borsini F.* Animal models of depression in drug discovery: a historical perspective. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2006. 84(3): 436–452.
19. *Nielsen C.K., Arnt J., Sanchez C.* Intracranial self-stimulation and sucrose intake differ as hedonic measures following chronic stress: interstrain and interindividual differences. *Behav. Brain Res.* 2000. 107: 21–33.
20. *Notzon F.C., Komarov Y.M., Ermakov S.P., Sempos C.T., Marks J.S., Sempos E.V.* Causes of declining life expectancy in Russia. *J. of Am. Med. Assoc.* 1998. 279: 793–800.
21. *Pawlik A.C., Morrison A.R., Ross R.J., Brennan F.X.* Stress-induced changes in sleep in rodents: Models and mechanisms. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 2008. 32: 99–117.
22. *Reid I.C., Forbest N., Stewart C., Matthews K.* Chronic mild stress and depressive disorder: a useful new model? *Psychopharmacology (Berl).* 1997. 134: 365–367.
23. *Retana-Marquez S., Bonilla-Jaime H., Vazquez-Palacios G., Martinez-Garcia R., Velázquez-Moctezuma J.* Changes in masculine sexual behavior, corticosterone and testosterone in response to acute and chronic stress in male rats. *Horm. Behav.* 2003. 44: 327–337.
24. *Riemann D., Berger M., Voderholzer U.* Sleep and depression – results from psychobiological studies: an overview. *Biol. Psychol.* 2001. 57: 67–103.
25. *Strekalova T., Gorenkova N., Schunk E., Dolgov O.* Selective effects of citalopram in a mouse model of stress-induced anhedonia with a control for chronic stress. *Behav. Pharmacol.* 2006. 17: 271–287.
26. *Strekalova T., Spanagel R., Bartsch D., Henn F.A., Gass P.* Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacology.* 2004. 11: 2007–2017.
27. *Strekalova T., Spanagel R., Dolgov O., Bartsch D.* Stress-induced hyperlocomotion as a confounding factor in anxiety and depression models in mice. *Behav. Pharmacol.* 2005. 16: 171–180.
28. *Vollmayr B., Henn F.* Stress models of depression. *Clin. Neurosci. Res.* 2003. 3: 245–251.
29. *Willner P.* Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology.* 2005. 52: 90–110.
30. *Willner P., Towell A., Sampson D., Sophokleous S., Muscat R.* Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berl).* 1987. 93: 358–364.