

На правах рукописи

ГАЛЯМИНА АННА ГЕОРГИЕВНА

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ТРЕВОЖНОСТИ И ДЕПРЕССИИ В
РАЗВИТИИ СМЕШАННОГО ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНОГО
РАССТРОЙСТВА: ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД

03.03.01 – Физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени

кандидата биологических наук

Новосибирск – 2015

Работа выполнена в Секторе нейрогенетики социального поведения, Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук, г. Новосибирск.

Научный руководитель-

доктор биологических наук, профессор, заведующая Сектором нейрогенетики социального поведения **Наталья Николаевна Кудрявцева**

Официальные оппоненты:

Татьяна Генриховна Толстикова, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова» Сибирского отделения Российской академии наук, заведующая Лабораторией фармакологических исследований (г. Новосибирск)

Марина Валерьевна Храпова, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины», (г. Новосибирск)

Ведущая организация -

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (г. Новосибирск)

Защита состоится «__» _____ 2015 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 001.014.01 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины» (630017, Новосибирск, ул. Тимакова, 4).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины».

Автореферат разослан «__» _____ 2015 г.

Учёный секретарь

диссертационного совета Д 001.014.01
доктор биологических наук, Мельников В.Н.

Общая характеристика работы

Актуальность темы. Депрессия и различные тревожные расстройства в современном мире являются широко распространёнными заболеваниями (Waraich et al., 2004; Somers et al., 2006; Olesen et al., 2012). Симптомы этих патологий часто сопутствуют друг другу (DSM-IV, 1994; Hiershfeld, 2001; Silverstone, von Studnitz, 2003). Это выявлялось как в клинической практике, так и при лабораторных исследованиях. При этом показано, что сочетание тревожности и депрессии у людей хуже поддаётся лечению, требует больших доз препаратов, увеличивает вероятность суицида и чаще приводит к развитию рецидивов (Stein et al., 2001; Andreescu et al., 2007; Bolton et al., 2010). Кроме того, существующие на сегодняшний день анксиолитики и антидепрессанты оказывают свой терапевтический эффект не в каждом случае даже при развитии только одного из этих заболеваний у пациента (Gorman, 2003; Arroll et al., 2005). Поэтому изучение механизмов, лежащих в основе тревожной и депрессивной патологии, и поиск эффективной фармакологической коррекции этих расстройств оказывается актуальной задачей.

Поиск новых способов лечения сочетания тревожности и депрессивности осложняется тем, что до сих пор точно не выяснено, являются ли они разными заболеваниями, сопутствующими друг другу, или же только симптомами одной и той же патологии (Stahl, 1993; DSM-IV, 1994). Однако понимание этого является крайне важным для выбора лечения больных. Если тревожность и депрессия развиваются независимо друг от друга, то можно полагать, что они находятся под контролем разных нейромедиаторных систем и, следовательно, требуют фармакологической коррекции препаратами разного спектра действия. В случае, если они являются лишь симптомами одной и той же патологии, то их проявление контролируется одними и теми же нейрохимическими системами и, следовательно, фармакологическая коррекция одного из симптомов будет приводить к нормализации другого. Однако следует заметить, что вероятнее всего, у больных могут присутствовать оба варианта сочетания тревожности и депрессии. Создание адекватных экспериментальных моделей на животных имеет большое значение для выяснения физиологических механизмов, лежащих в основе данной патологии и разработки методов эффективной фармакологической терапии этого заболевания.

Ранее было показано, что хронический социальный стресс, вызванный повторным опытом поражений в ежедневных межсамцовых конфронтациях, приводит к развитию тревожно-депрессивного состояния у самцов мышей (Августинович и др., 2004; Kudryavtseva, Avgustinovich, 1998), причем развитие тревожности предшествует и способствует развитию депрессии (Августинович, 2008; Kudryavtseva et al., 1995). Но взаимосвязь между депрессивными и тревожными симптомами на стадии выраженной патологии оставалась невыясненной.

Цель исследования: при помощи хронического введения препаратов различного спектра действия исследовать взаимосвязь депрессии и тревожности у самцов мышей в структуре смешанного тревожно-депрессивного расстройства, формируемого под влиянием хронического социального стресса.

Исходя из этого, были поставлены следующие **задачи**:

1. изучить изменения уровня депрессивности и тревожности у самцов мышей под влиянием бензодиазепинового анксиолитика диазепам;
2. исследовать влияние трициклического антидепрессанта кломипрамина на состояние депрессивности и тревожности у самцов мышей;
3. изучить изменения тревожно-депрессивного состояния самцов мышей под влиянием иммуностимулирующего препарата ронколейкина (рекомбинантный интерлейкин-2 человека), обладающего психотропным действием;
4. исследовать влияние хронического социального стресса на поведение самцов

мышей в подростковом возрасте и изучить его отставленные эффекты на изменение психоэмоционального состояния взрослых животных.

Научная новизна. Впервые с применением фармакологического метода (Kudryavtseva et al., 2008) предложен экспериментальный способ исследования механизмов взаимосвязи депрессии и тревожности в рамках смешанного тревожно-депрессивного расстройства, развивающегося под влиянием хронического социального стресса. При анализе клинических и экспериментальных исследований впервые выявлены возможные причины неэффективности действия анксиолитиков и антидепрессантов при коморбидности тревожных и депрессивных симптомов.

Теоретическая и практическая значимость работы. Проведённое исследование раскрывает новые возможности экспериментального метода скрининга психотропных препаратов в условиях, приближающихся к клиническим (Kudryavtseva et al., 2008), который позволяет выявлять протекторные свойства препаратов при хроническом введении в процессе развития болезни и их лечебные свойства у животных со сформированным тревожно-депрессивным расстройством. Понимание механизмов взаимосвязи тревожности и депрессии в рамках смешанного заболевания имеет практическое значение для подбора терапии в случае коморбидности этих заболеваний. Предлагается использование данного экспериментального подхода для скрининга новых психотропных препаратов во всех фармакологических фирмах с целью выявления механизмов их действия, а также их эффективности.

Положения, выносимые на защиту

1. Под влиянием хронически вводимых препаратов различного механизма действия при разных режимах введения уровни депрессивности и тревожности изменялись независимо друг от друга;

2. У подростков, находившихся в условиях социального стресса, формирование тревожности и депрессии происходит различными путями;

3. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что у самцов мышей с тревожно-депрессивным состоянием, сформированным под влиянием хронического социального стресса, повышенная тревожность и депрессивность являются независимыми заболеваниями и требуют разной фармакологической коррекции.

Личный вклад автора. Автор сделала определяющий вклад при постановке поведенческих экспериментов на всех стадиях (формирование животных с тревожно-депрессивной патологией, введение фармакологических препаратов, тестирование поведения). Кроме того, автор обрабатывала видеозаписи поведенческих тестов и проводила статистический анализ результатов экспериментов.

Апробация работы. Представленные в работе данные обсуждались на XLIX Международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс» (Новосибирск, 2011), VII сибирском съезде физиологов (Красноярск, 2012), Международной конференции «Фундаментальные науки – медицине» (Новосибирск, 2013), на 26 конгрессе Европейской коллегии по нейропсихофармакологии (26th Congress of European College of Neuropsychopharmacology, Barcelona, Spain, 2013), 9 Международной конференции по биоинформатике структуры и регуляции генома и системной биологии (9th International conference on bioinformatics and genome regulation and structure/system biology, Novosibirsk, 2014).

Публикации. По результатам исследований издано 11 работ, в том числе 2 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ для публикации основных научных результатов диссертации на соискание учёной степени кандидата наук, а также опубликована статья в зарубежной печати.

Объём и структура работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы,

описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 122 страницах машинописного текста, содержит 10 рисунков и 7 таблиц. Список литературы включает 339 источников, из них 308 иностранных

Работа поддержана Программой Президиума РАН «Фундаментальные науки – медицине» ФНМ-16, и, частично, Российским научным фондом (грант 14-15-00063).

Материалы и методы

Экспериментальные животные

Эксперименты проводились на самцах мышей линии C57BL/6J в возрасте 2,5-3 месяцев. Эксперименты по влиянию хронического социального стресса в подростковом возрасте проводились на самцах мышей той же линии в возрасте 1 месяца. В экспериментальных группах было по 10-12 животных.

Формирование смешанного тревожно-депрессивного расстройства под влиянием хронического социального стресса.

Тревожно-депрессивное состояние у самцов мышей формировали под влиянием хронического социального стресса (Kudryavtseva et al., 1991). Выровненных по массе особей из разных пометов попарно помещали в металлические экспериментальные клетки, разделенные на два равных отсека прозрачной перегородкой с отверстиями. Ежедневно во второй половине дня перегородку убирали на 10 минут. Это приводило к агонистическому взаимодействию самцов (драке). Опыт поражения в первых столкновениях закреплялся в дальнейшем при взаимодействии с разными агрессивными партнёрами. В данной работе использовались самцы мышей с тревожно-депрессивным состоянием, которое было сформировано в результате 20 дней социальных поражений.

Поведенческие тесты

Тест «перегородка» (Kudryavtseva, 1994) оценивает уровень коммуникативности животного по его реакции на партнёра в соседнем отсеке общей клетки и может быть использован для измерения уровня тревожности.

Приподнятый крестообразный лабиринт (ПКЛ) (Lister, 1987, Rodgers, Cole, 1994), поведение в котором чувствительно к действию анксиотропных препаратов, оценивает уровень тревожности особи по соотношению времени, проведённого в открытых и закрытых рукавах лабиринта.

Поведение животных в тесте Порсолта (Porsolt et al., 1977) чувствительно к действию антидепрессантов. Кроме того, этот тест может использоваться для оценки уровня депрессивности животных. Параметрами, отражающими выраженность депрессивноподобного поведения, являются время пассивного плавания животных, а также латентное время демонстрации полной неподвижности в неизбежных условиях.

Фармакологическое воздействие

В работе использовали бензодиазепиновый анксиолитик диазепам («Реланиум», Польша, Польша) в дозе 0,5 мг/кг/день, трициклический антидепрессант кломипрамин (Sigma, США) в дозах 20 и 40 мг/кг/день, а также иммуностимулятор ронколейкин (рекомбинантный интерлейкин II человека, Биотех) в дозе 5000 МЕ/кг/день. Препараты растворяли в физиологическом растворе и вводили внутривенно. Терапевтический эффект препарата на тревожно-депрессивное состояние самцов мышей оценивали в поведенческих тестах при сравнении с группой тревожно-депрессивных самцов, которым вводили физиологический раствор. Эффективность препарата выясняли при сравнении с контрольным состоянием животных.

Схема эксперимента

В данной работе применялся метод скрининга препаратов в условиях, приближенных

к клиническим (Kudryavtseva et al., 2008). Использовали введение препарата в превентивном режиме, т.е. введение на фоне действия стресса, начиная с седьмого дня агонистических взаимодействий. Лечебный режим подразумевал введение препарата тревожно-депрессивным животным после 20 дней стресса после прекращения агонистических взаимодействий. В превентивном режиме вводили диазепам, в лечебном – все использованные препараты. Препараты вводили 1 раз в день в течение 2 недель. Тестирование поведения проводилось в режиме 1 тест в день в порядке: тест «перегородка», ПКЛ, тест Порсолта. Контролем для поведенческих тестов служили особи без последовательного опыта агонистических взаимодействий, рассажённые на 5 дней в условия индивидуального содержания для удобства поведенческого тестирования.

Формирование тревожно-депрессивного состояния у подростков.

Потенциальные агрессоры, взрослые самцы мышей, были помещены по одному в один из отсеков клетки, разделенной прозрачной перфорированной перегородкой. В свободный отсек клетки подсаживали самца-подростка (ювенильного самца) в возрасте 1 месяца. Ежедневно в течение 14 дней во второй половине дня убирала перегородку на 5 минут, что приводило к демонстрации агрессии со стороны взрослого самца. Затем исследовалось поведение мышей-подростков в тестах «перегородка», ПКЛ и тесте Порсолта. В другой серии экспериментов с целью выявления возможных отставленных эффектов социального стресса, самцы-подростки после двух недель взаимодействия с взрослым агрессивным партнером, помещались попарно в условия комфортного проживания – с таким же ювенильным самцом на 3 недели. Затем животных рассаживали на пять дней в индивидуальные клетки, после чего проводилось тестирование поведения в тестах «перегородка», ПКЛ и тесте Порсолта. В качестве контроля использовали самцов того же возраста, проживавших весь экспериментальный период по 6 особей, в основном однопомётными группами.

Статистическая обработка

Проверка нормальности производилась при помощи критерия Шапиро-Уилкса (Shapiro-Wilks W-тест). Равенство дисперсий определялось критерием Левена (Levene test). Для анализа поведения в тесте «перегородка» и тесте Порсолта использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. Последующие сравнения между группами проводили с помощью критериев Fisher LSD или Bonferroni. Для теста ПКЛ применялся дисперсионный анализ Краскела-Уоллиса (Kruskal-Wallis) и дальнейший анализ при помощи критерия Манна-Уитни (Mann-Witney, U-критерий).

При исследовании влияния хронического социального стресса в подростковом возрасте для анализа теста «перегородка» использовали однофакторный дисперсионный анализ ANOVA для повторных измерений и дальнейшее сравнение критерием Fisher LSD или Бонферрони. Для исследования поведения в тесте ПКЛ и тесте Порсолта использовали t-критерий Стьюдента.

Критическое значение уровня значимости принималось $p \leq 0,05$. Данные представлены как $M \pm m$. Анализ данных производился с помощью программы Statistica 6.0.

Результаты

1. Влияние лечебного и превентивного введения диазепама на поведение самцов в различных тестах

Статистически значимых отличий между животными, получавшими физиологический раствор и диазепам, обнаружено не было ни по одному из параметров теста «перегородка» как при превентивном способе введения на фоне формирования тревожно-депрессивного состояния, так и при лечебном способе введения животным со сформированной патологией поведения: сниженная реакция на незнакомого партнера в соседнем отсеке, которая наблюдалась под влиянием социального стресса, не восстанавливалась до уровня контроля под влиянием препарата (рис.1).

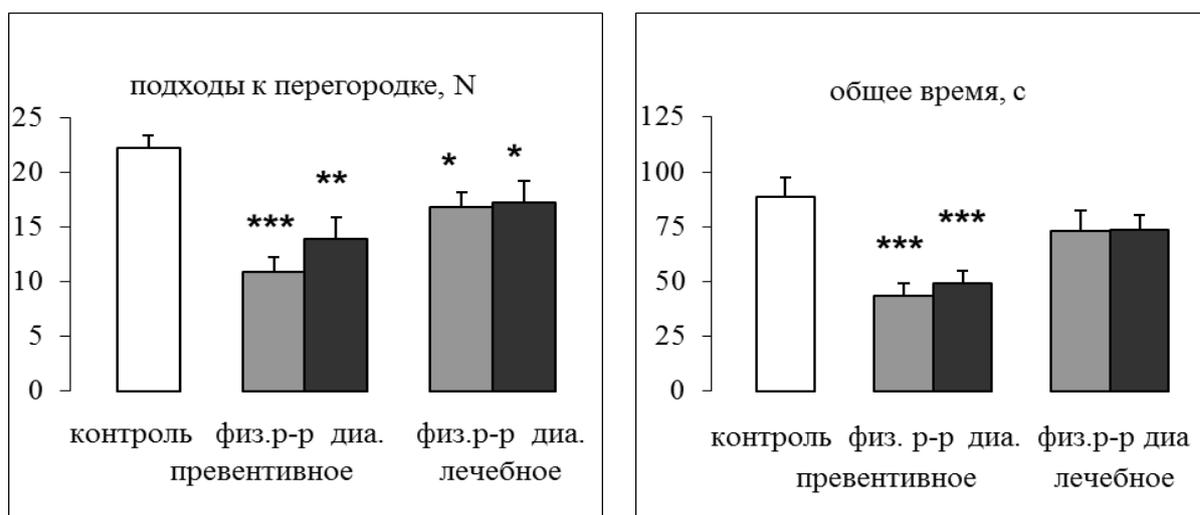


Рисунок 1. Влияние диазепама на поведение самцов мышей в тесте «перегородка» при превентивном и лечебном способах введения

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$ по сравнению с контролем.

физ. р-р. – физиологический раствор, диа – диазепам

При исследовании поведения самцов мышей в тесте ПКЛ (табл. 1.) было отмечено некоторое снижение уровня тревожности по основным параметрам теста у депрессивных самцов после двух недель отдыха. При лечебном введении препарат не оказал какого-либо воздействия на число эпизодов аутогруминга и исследовательской активности, однако при превентивном способе введения этот параметр под влиянием препарата возвращался к контрольному уровню ($12,5 \pm 2,8$ – у контроля vs $7,6 \pm 2,0$ - введение физиологического раствора ($p < 0,05$) и $11,0 \pm 2,5$ - введение диазепама), что свидетельствует о его анксиолитическом эффекте.

В тесте Порсолта (рис.2) было обнаружено снижение латентного времени демонстрации неподвижности депрессивных животных по сравнению с контролем, причем на этот параметр препарат не оказал какого-либо статистически значимого действия при обоих способах введения. Но при этом было обнаружено значимое увеличение общего времени пассивного плавания у животных, получавших превентивно диазепам по сравнению с контролем, что свидетельствует о продепрессивном эффекте препарата. В то же время, лечебное введение препарата не повлияло на уровень депрессивности у самцов мышей с тревожно-депрессивным расстройством.

Таблица 1. Влияние диазепама на поведение самцов мышей в тесте ПКЛ

Параметр	Лечебное введение		
	Контроль	Физ. р-р	Диазепам
Закрытые рукава, N (%)	47,4 ± 1,9	51,7 ± 4,6	51,6 ± 2,9
Закрытые рукава, с. (%)	69,1 ± 7,5	85,1 ± 2,6	76,4 ± 7,2
Центр, N (%)	48,4 ± 0,7	45,3 ± 4,1	46,5 ± 2,1
Центр, с. (%)	25,2 ± 8,0	13,8 ± 2,6	22,4 ± 6,7
Открытые рукава, N (%)	4,2 ± 1,4	2,9 ± 1,3	1,9 ± 1,3
Открытые рукава, с. (%)	1,5 ± 0,6	1,1 ± 0,5	1,2 ± 0,8
Переходы, N	4,1 ± 0,8	4,5 ± 1,1	3,9 ± 1,0
Выглядывания, N	6,1 ± 1,3	4,7 ± 0,6	4,9 ± 0,8
Заглядывания, N	5,0 ± 1,4	3,2 ± 0,8	5,2 ± 1,4
Аутогруминг, с.	12,5 ± 2,8	0,3 ± 0,2***	0,1 ± 0,1**
Вертикальные стойки, N	2,0 ± 0,4	0,0 ± 0***	0,4 ± 0,2***

Примечание: ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ по сравнению с контролем.

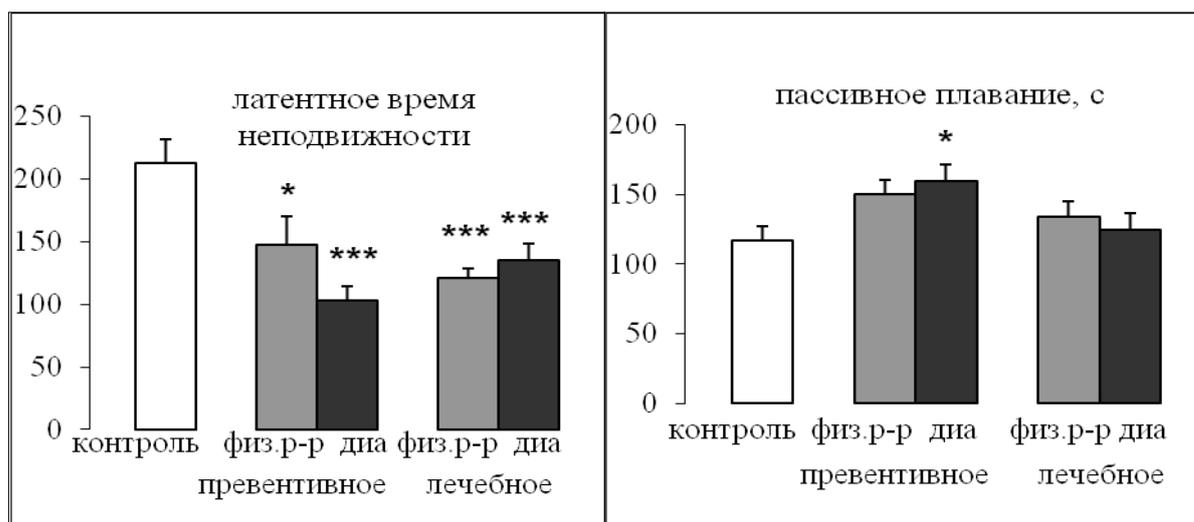


Рисунок 2. Влияние диазепама на поведение самцов мышей в тесте Порсолта при лечебном и превентивном введении. * - $p < 0,05$; *** - $p < 0,001$ по сравнению с контролем. физ. р-р. – физиологический раствор, диа – диазепам.

Слабый анксиолитический эффект превентивного введения диазепама, возможно, объясняется влиянием стресса агонистических взаимодействий, на фоне которых вводили препарат. Это предположение согласуется с результатами, которыми показано, что на фоне сильного острого или хронического стресса бензодиазепины могут не снижать тревожность (Sharma et al., 2011). Продепрессивный эффект диазепама тоже не является уникальным. Хотя в клинической практике иногда применяют бензодиазепиновые анксиолитики для купирования депрессии (Demyttenaere et al., 2008), тем не менее, показано, что появление симптомов депрессии может быть одним из побочных эффектов при приёме бензодиазепинов (Longo et al., 2000). Возможно, продепрессивное действие диазепама объясняется снижением активности серотонергической системы, выявленным ранее для бензодиазепиновых анксиолитиков (Collinge et al., 1983; Stein et al., 1975).

В случае лечебного введения диазепама животным со смешанным тревожно-

депрессивным расстройством отсутствие эффекта препарата объясняется, скорее всего, исходным состоянием нейромедиаторных систем. Для депрессивных животных с 20-дневным опытом поражений характерно истощение серотонергической системы (Августинович и др. 2004). Дальнейшее же её ингибирование под влиянием диазепама, соответственно, не приводит к нормализации поведения.

Таким образом, хроническое введение диазепама в превентивном режиме оказывает анксиолитический эффект. Уровень депрессивности при этом не изменяется. Полученный результат свидетельствует в пользу независимости депрессии и тревожности.

2. Влияние кломипрамина на поведение самцов мышей со смешанным тревожно-депрессивным расстройством в различных тестах

Поскольку бензодиазепиновые препараты оказывают специфическое влияние на нейрхимическую регуляцию тревожного поведения, в дальнейшем мы исследовали влияние препарата, оказывающего специфическое влияние на депрессивность – трициклического антидепрессанта кломипрамина, используемого в клинике, вводя лечебно препарат животным с выраженным тревожно-депрессивным состоянием.

В тесте «перегородка» (рис.3) введение кломипрамина в дозе 40 мг/кг снижало поведенческую реакцию, как на знакомого, так и на незнакомого партнёра по сравнению с животными, получавшими физиологический раствор, что свидетельствует об анксиогенном эффекте препарата.

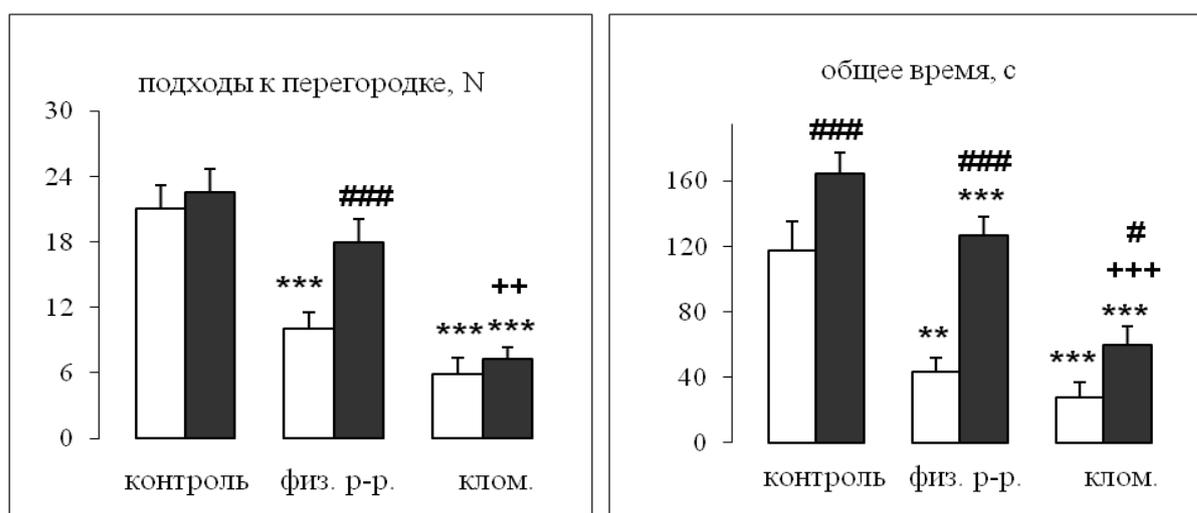


Рисунок 3. Влияние кломипрамина в дозе 40 мг/кг на поведение самцов мышей в тесте «перегородка».

Белые столбцы - реакция на знакомого партнера, чёрные столбцы - реакция на незнакомого партнера. ** - $p < 0,01$; ***- $p < 0,001$ по сравнению с контролем; ++ - $p < 0,01$; +++ - $p < 0,001$ по сравнению с введением физиологического раствора, # - $p < 0,05$; ### - $p < 0,001$ по сравнению с реакцией на знакомого партнера; физ. р-р. - физиологический раствор, клон. – кломипрамин

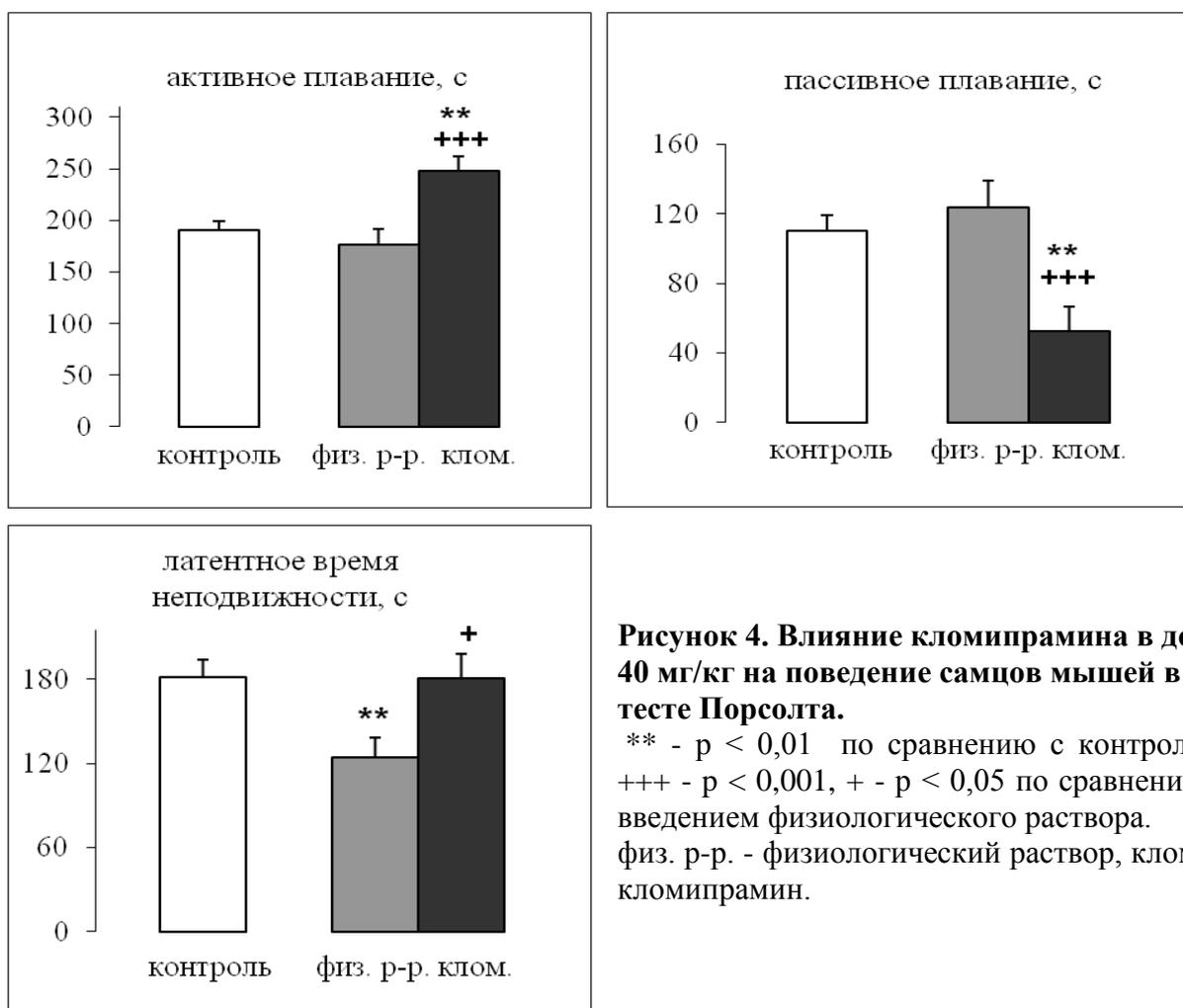
В тесте ПКЛ у животных под влиянием введения кломипрамина уровень тревожности повышался: они реже выходили в открытые рукава и центр и меньше времени проводили в центре, а число выходов в закрытые рукава и время, проведённое в них, было выше по сравнению с контрольными животными. Эти данные, а также уменьшение времени, проведенного в центре, и увеличение времени в закрытых рукавах, по сравнению с животными, получавшими физиологический раствор, также позволяют сделать вывод об анксиогенном эффекте препарата.

Таблица 2. Влияние кломипрамина (40 мг/кг) на поведение тревожно-депрессивных самцов мышей в тесте ПКЛ

Параметр	Контроль	Физ. р-р	Кломипрамин
Открытые рукава, с. (%)	5,5 ± 3,0	0,8 ± 0,4	0,2 ± 0,2
Открытые рукава, N (%)	6,8 ± 2,0	4,1 ± 1,9	1,5 ± 1,5*
Центр, с. (%)	15,1 ± 2,4	12,9 ± 2,6	7,2 ± 1,7*+
Центр, N (%)	47,4 ± 0,7	44,5 ± 1,0*	39,4 ± 4,3*
Закрытые рукава, с (%)	793 ± 4,7	86,3 ± 2,6	92,6 ± 1,7**+
Закрытые рукава, N (%)	45,8 ± 2,3	51,4 ± 2,0	59,0 ± 4,9**
Выглядывания, N	6,4 ± 0,9	6,7 ± 1,1	5,4 ± 1,2
Заглядывания, N	4,7 ± 1,2	2,2 ± 0,6*	1,3 ± 0,4*
Переходы, N	4,2 ± 0,9	2,0 ± 0,6	1,2 ± 0,3*
Вертикальные стойки, N	16,4 ± 2,2	10,9 ± 1,1	4,2 ± 1,1***+++

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ по сравнению с контролем; + - $p < 0,05$; +++ - $p < 0,001$ по сравнению с введением физиологического раствора

В тесте Порсолта (рис.4) восстановление до контрольного уровня латентного времени первой неподвижности под влиянием кломипрамина свидетельствовало о снижении уровня депрессивности, развившейся под воздействием хронического социального стресса. При этом общее время пассивного плавания у этой группы животных было достоверно меньше не только по сравнению с группой, получавшей физиологический раствор, но и по сравнению с контролем. Эти данные позволяют говорить не просто о снижении депрессивности, но и об усилении двигательной активности.



Поскольку известно, что трициклические препараты блокируют обратный захват серотонина (Машковский, 2008), можно предполагать, что антидепрессивный эффект кломипрамина связан со стимуляцией серотонергической системы, активность которой у депрессивных больных и у мышей с тревожно-депрессивным состоянием снижена (Августинович и др., 2004). Усиление двигательной активности, вероятнее всего, объясняется активацией норадренергической системы (Billes, Cowley, 2008), вызванной использованием слишком большой дозы препарата. Кроме того, избыточная доза антидепрессанта, вероятно, чрезмерно активировала серотонергическую систему, что проявилось в анксиогенном эффекте препарата.

Для того чтобы исключить эффекты чрезмерной активации моноаминергических систем, был проведен эксперимент с использованием кломипрамина в меньшей дозе 20 мг/кг.

Введение кломипрамина в дозе 20 мг/кг не оказало влияния на параметры коммуникативности, а значит, и состояние тревожности (рис.5): у обеих групп депрессивных животных было снижено число подходов к перегородке и время, проведенное возле нее в реакции на незнакомого партнера.

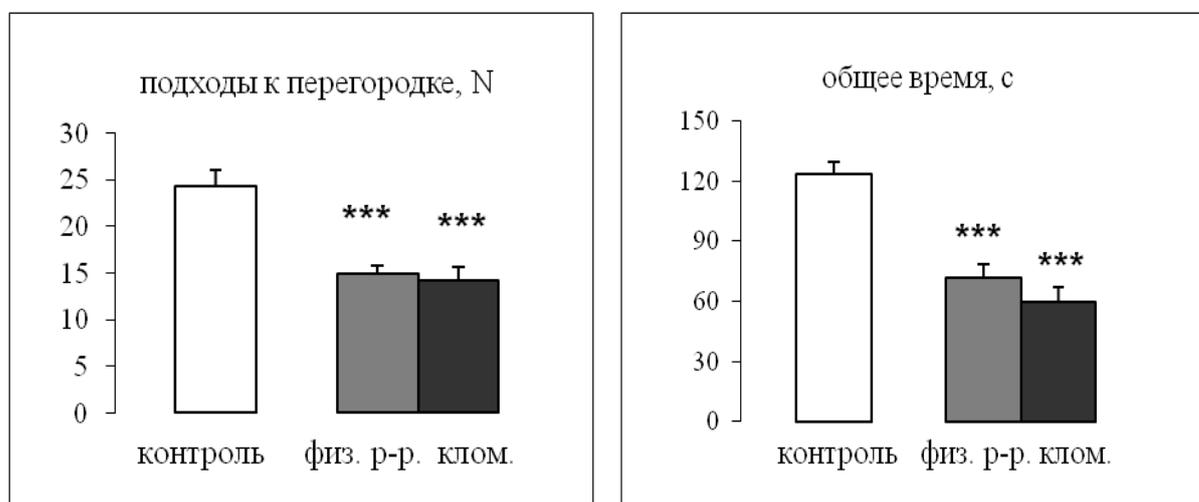


Рисунок 5. Влияние кломипрамина в дозе 20 мг/кг на поведение самцов мышей в тесте «перегородка».

*** - $p < 0,001$, по сравнению с контролем, физ. р-р. - физиологический раствор, клон. – кломипрамин.

В тесте ПКЛ группы тревожно-депрессивных животных с введением физиологического раствора и препарата проводили меньше времени в открытых рукавах, в центре, реже выходили в открытые рукава, а также достоверно чаще, чем контроль, заходили в закрытые рукава и проводили в них больше времени. Различий между животными, получавшими кломипрамин и физиологический раствор, обнаружено не было. Таким образом, данная доза кломипрамина никак не повлияла на уровень тревожности.

В тесте Порсолта кломипрамин оказал некоторый антидепрессивный эффект, увеличив сниженное латентное время неподвижности у группы тревожно-депрессивных мышей с введением физиологического раствора так, что оно перестало отличаться от контрольного уровня.

Следовательно, снижение депрессивности при введении кломипрамина в дозе 20

мг/кг не привело к снижению тревожности. Этот факт, так же, как и разнонаправленность изменений депрессии и тревожности под влиянием кломипрамина в дозе 40 мг/кг, позволяет предположить, что эти патологии в данной модели являются независимыми заболеваниями

Таблица 3. Влияние кломипрамина (20 мг/кг) на поведение тревожно-депрессивных самцов мышей в тесте ПКЛ

Параметр	Контроль	Физ. р-р	Кломипрамин
Открытые рукава, с. (%)	6,7 ± 1,8	0,4 ± 0,2**	0,6 ± 0,4**
Открытые рукава, N (%)	12,4 ± 2,5	2,6 ± 1,5**	2,2 ± 1,2**
Центр, с. (%)	17,5 ± 2,3	8,4 ± 1,6**	8,7 ± 1,7**
Центр, N (%)	49,2 ± 0,5	49,6 ± 0,6	50,7 ± 0,4*
Закрытые рукава, с. (%)	75,7 ± 2,9	91,2 ± 1,7***	90,8 ± 2,0***
Закрытые рукава, N (%)	38,4 ± 2,5	47,8 ± 1,1**	47,1 ± 1,4**
Входы/выходы, N	23,6 ± 3,4	10,1 ± 2,1**	10,7 ± 2,0**
Выглядывания, N	4,7 ± 0,6	3,8 ± 0,8	4,9 ± 0,8
Заглядывания, N	6,5 ± 1,2	0,8 ± 0,3***	1,2 ± 0,5***
Переходы, N	5,5 ± 1,1	2,2 ± 0,9*	2,8 ± 0,8
Вертикальные стойки, N	15,6 ± 1,7	8,9 ± 2,0*	4,3 ± 1,0***+

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ по сравнению с контролем; + - $p < 0,05$; +++ - $p < 0,001$ по сравнению с введением физиологического раствора.

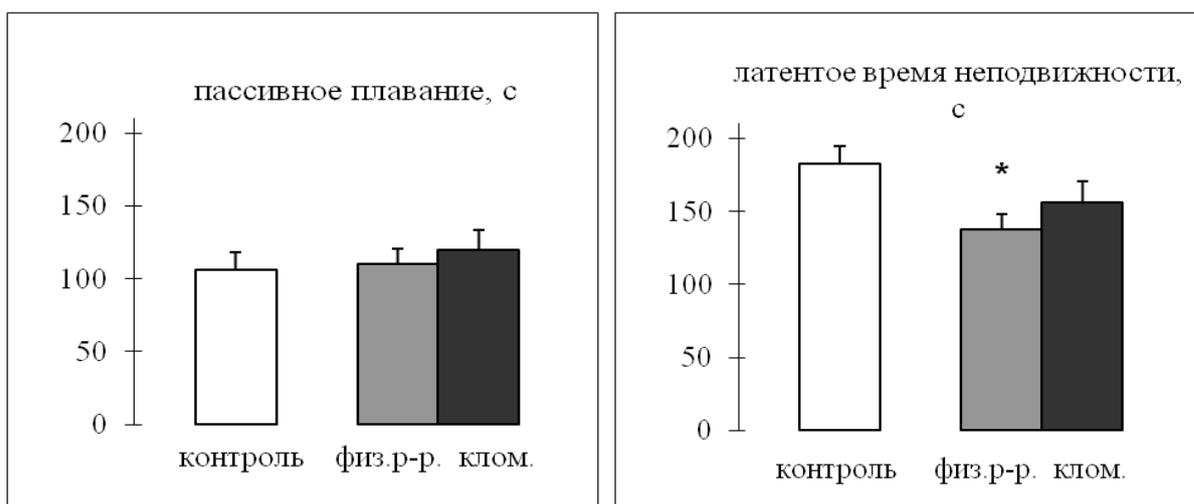


Рисунок 6. Влияние кломипрамина в дозе 20 мг/кг на поведение самцов мышей в тесте Порсолта.

* - $p < 0,05$ по сравнению с контролем, физ. р-р. - физиологический раствор, клом. – кломипрамин

3. Влияние хронического введения рекомбинантного интерлейкина II на поведение тревожно-депрессивных самцов в различных тестах

Для того, чтобы дополнительно изучить возможную взаимосвязь данных заболеваний мы исследовали влияние препарата, не влияющего непосредственно на классические нейромедиаторные механизмы тревожности и депрессии, но, тем не менее,

оказывающих многократно показанный эффект на поведение. В качестве такого препарата был выбран ронколейкин – рекомбинантный человеческий интерлейкин-2.

В тесте «перегородка» тревожно-депрессивные животные с введением ронколейкина реже подходили к перегородке и меньше времени проводили возле неё, реагируя на партнера (рис.7), что свидетельствует о снижении коммуникативности и, следовательно, об усилении тревожности.

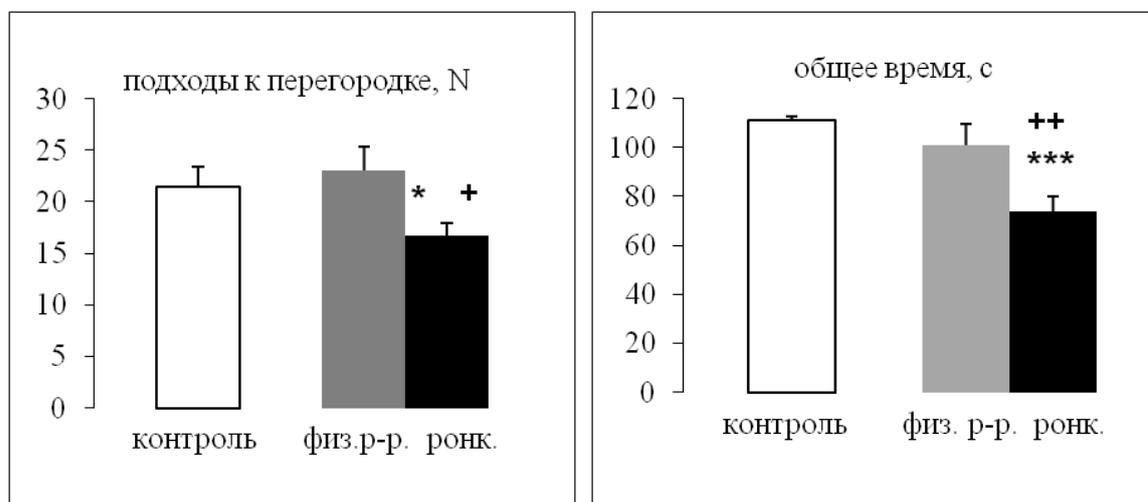


Рисунок 7. Влияние ронколейкина на поведение самцов мышей в тесте «перегородка»

*- $p < 0,05$; ***- $p < 0,001$ по сравнению с контролем; + - $p < 0,05$; ++ - $p < 0,01$, по сравнению с животными, с введением физиологического раствора.

физ. р-р – физиологический раствор, ронк – ронколейкин.

В тесте ПКЛ у этой группы животных ронколейкин снизил время, проведённое в центре лабиринта, но увеличил время, проведённое в закрытых рукавах, по сравнению с контрольной группой (табл. 4), что свидетельствует о повышении уровня тревожности. Таким образом, по результатам этих тестов можно говорить об анксиогенном эффекте препарата.

Таблица 4. Влияние ронколейкина на поведение самцов мышей в тесте ПКЛ.

Параметр	Контроль	Физ. р-р	Ронколейкин
Открытые рукава, с. (%)	1,97 ± 1,6	0,21 ± 0,2	0,00 ± 0,0
Открытые рукава, N (%)	1,88 ± 1,2	0,45 ± 0,5	0,00 ± 0,0
Центр, с. (%)	11,24 ± 2,8	5,18 ± 1,8	2,97 ± 0,5 **
Центр, N (%)	50,52 ± 0,4	50,91 ± 0,9	50,00 ± 0,0
Закрытые рукава, с. (%)	86,79 ± 3,7	94,61 ± 1,9	97,03 ± 0,5 **
Закрытые рукава, N (%)	47,60 ± 1,4	48,64 ± 1,0	50,00 ± 0,0
Выглядывания, N	5,64 ± 1,2	4,55 ± 0,8	4,91 ± 0,67
Заглядывания, N	2,00 ± 0,5	0,55 ± 0,2*	0,55 ± 0,3 *
Переходы, N	4,36 ± 0,6	2,27 ± 0,8	2,64 ± 1,1

Примечание: *- $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ по сравнению с контролем

В тесте Порсолта введение ронколейкина восстанавливало до контрольного уровня латентное время первой неподвижности и общее время пассивного плавания, изменённые под влиянием хронического социального стресса (рис. 8), оказывая

антидепрессивный эффект.

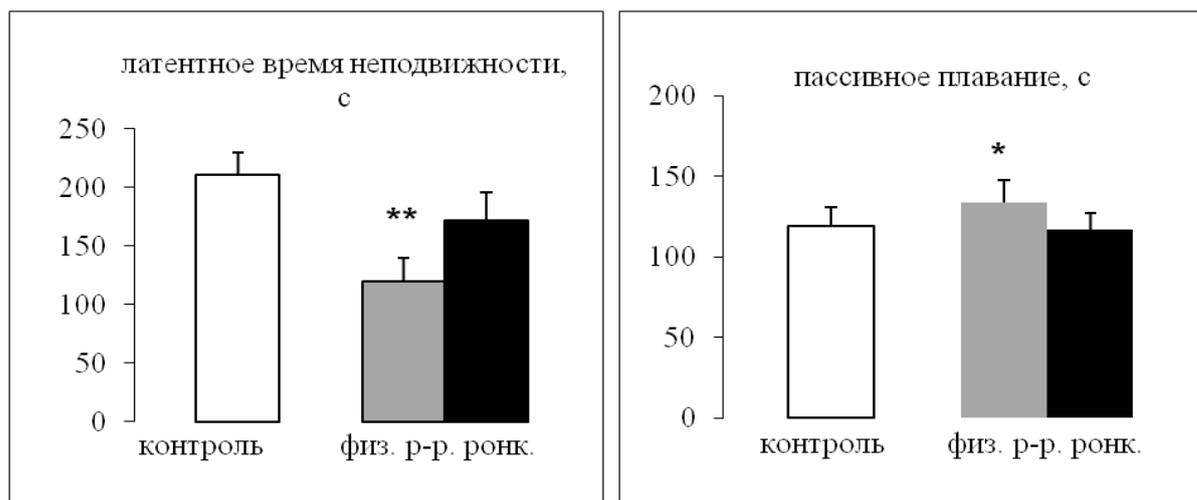


Рисунок 8. Влияние ронколейкина на поведение тревожно-депрессивных самцов мышей в тесте Порсолта

*- $p < 0,05$; **- $p < 0,01$ по сравнению с контролем. физ. р-р – физиологический раствор, ронк – ронколейкин

Известно, что функциональное состояние лимфоцитов тесно связано с метаболизмом нервных клеток и продукцией нейромедиаторов (Glagkevich et al., 2004). Поэтому, скорее всего, психотропный эффект ронколейкина, наблюдаемый в нашем эксперименте, можно объяснить его воздействием на серотонергическую систему (Pauli et al., 1998). А выявленная разнонаправленность изменений депрессии и тревожности под влиянием ронколейкина может служить ещё одним подтверждением независимости этих заболеваний, первоначально показанной при исследовании кломипрамина и диазепама.

4. Влияние хронического социального стресса в подростковом возрасте на формирование тревожности и депрессии

Для дальнейшей проверки гипотезы о независимости формирования тревожности и депрессии в эксперименте мы исследовали влияние хронического социального стресса в подростковом возрасте на поведение самцов мышей и отставленные эффекты этого воздействия во взрослом состоянии. Было показано, что по сравнению с контрольными животными стрессированные подростки меньше времени проводили возле перегородки (рис.9) как при реакции на знакомого, так и при реакции на незнакомого партнёра, что свидетельствует о развитии тревожности под влиянием социального стресса.

В тесте ПКЛ по сравнению с контролем у стрессированных подростков было увеличено число заходов в закрытые рукава. В то же время у них было снижено число заглядываний под лабиринт, число выходов в открытые рукава и время, проведённое в открытых рукавах, что, как и результаты теста «перегородка» говорит об анксиогенном эффекте социального стресса.

В тесте Порсолта у стрессированных подростков по сравнению с контрольными животными обнаружена тенденция к увеличению времени пассивного плавания, что свидетельствует о тенденции к развитию депрессивноподобного поведения.

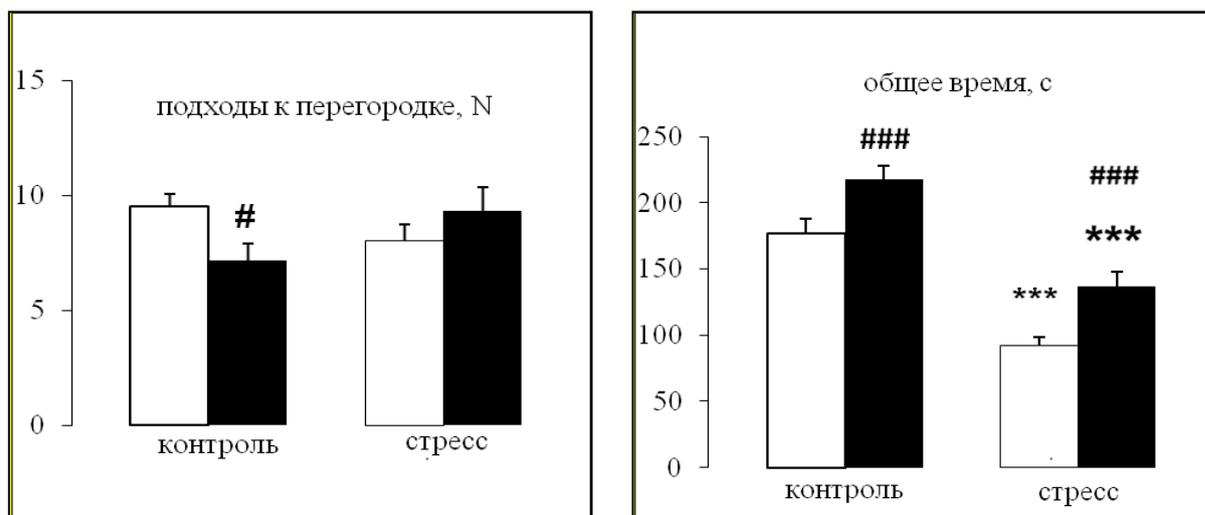


Рисунок 9. Влияние хронического социального стресса в подростковом возрасте на поведение в тесте «перегородка»

*** - $p < 0,001$ по сравнению с контролем; # - $p < 0,05$; ### - $p < 0,001$ по сравнению с реакцией на партнёра. Белые столбы – реакция на знакомого партнёра, чёрные – на незнакомого партнера

Таблица 5. Влияние хронического социального стресса в подростковом возрасте на поведение в тесте ПКЛ

Параметр	Контроль	Стресс
Открытые рукава, N (%)	8,7 ± 2,0	2,9 ± 0,9*
Открытые рукава, с. (%)	4,5 ± 1,4	1,1 ± 0,3*
Центр, N (%)	48,8 ± 0,6	44,9 ± 2,3
Центр, с. (%)	18,0 ± 2,3	8,5 ± 1,8
Закрытые рукава, N (%)	42,5 ± 2,2	52,2 ± 2,6*
Закрытые рукава, с. (%)	77,5 ± 2,5	90,4 ± 2,1
Переходы, N	7,5 ± 0,8	8,4 ± 2,0
Выглядывания, N	9,4 ± 1,5	10,8 ± 1,6
Заглядывания, N	8,3 ± 1,8	3,5 ± 1,0**

Примечание: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ по сравнению с контролем

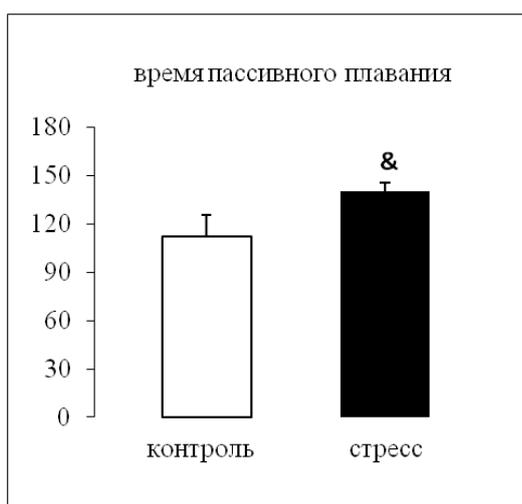


Рисунок 10. Влияние хронического социального стресса на поведение подростков в тесте Порсолта
& - $p < 0,06$ по сравнению с контролем.

смешанное тревожно-депрессивное расстройство. Кроме того, она может быть использована для исследования более тонких молекулярных механизмов, лежащих в основе независимости этих патологий.

Выводы

1. Введение бензодиазепинового анксиолитика диазепам животным в процессе формирования тревожно-депрессивного расстройства оказало протекторный анксиолитический, но продепрессивный эффекты. Лечебное введение диазепам не повлияло ни на уровень тревожности, ни на уровень депрессии.
2. Хроническое лечебное введение трициклического антидепрессанта кломипрамина тревожно-депрессивным животным оказывает антидепрессивный эффект и в зависимости от дозы либо не влияет на тревожное поведение, либо усиливает состояние тревожности.
3. Хроническое лечебное введение иммуностимулятора ронколейкина тревожно-депрессивным животным оказало анксиогенный и антидепрессивный эффект.
4. Хронический социальный стресс в подростковом возрасте приводит к формированию тревожно-депрессивного состояния у самцов мышей. У взрослых животных уровень тревожности остаётся повышенным, но без депрессивной симптоматики;
5. Независимость изменений уровня тревожности и депрессии под влиянием одних и тех же воздействий позволяет сделать вывод, что тревога и депрессия, формируемые в результате действия хронического социального стресса, являются независимыми заболеваниями, требующими самостоятельной фармакологической коррекции.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах:

1. Смагин Д. А., **Галямина А.Г.**, Бондарь Н.П., Кудрявцева Н.Н. Влияние кломипрамина на тревожно-депрессивное состояние, вызванное хроническим социальным стрессом у самцов мышей. // Психофармакология и биологическая наркология. 2011. №1-2. С.2666-2676.
2. **Галямина А.Г.**, Смагин Д.А., Коваленко И.Л., Бондарь Н.П., Кудрявцева Н.Н. Влияние диазепам на смешанное тревожно-депрессивное расстройство у самцов мышей. // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. 2013. Т.99. №11. С. 1240-1249.
3. Шурлыгина А.В., **Галямина А.Г.**, Мельникова Е.В., Пантелеева Н.Г., Тендитник М.В., Труфакин В. А., Кудрявцева Н.Н. Влияние ронколейкина на иммунную недостаточность и тревожно-депрессивное состояние, вызванных хроническим социальным стрессом у самцов мышей. // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. 2014. Т.100. №2. С.201-214.
4. Kovalenko I.L., **Galyamina A.G.**, Smagin D.A., Kudryavtseva N.N., Enikolopov G.N. Extended Effect of Chronic Social Defeat Stress in Childhood on the Behaviors in Adulthood. // PloSone. 2014. V. 9. №3. P. e91762. <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0091762>

Тезисы конференций

1. **Галямина А.Г.** Взаимосвязь депрессии и тревожности: эффекты кломипрамина. // Материалы. XLIX Международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс». Новосибирский государственный университет. Новосибирск, 2011. С.9.
2. **Галямина А.Г.**, Смагин Д.А., Григорьева А.Е, Коваленко И.Л., Бондарь Н.П., Кудрявцева Н.Н. Взаимосвязь тревожности и депрессии в развитии тревожно-депрессивного расстройства у мышей: эффекты диазепам. // VII Сибирский съезд физиологов. Материалы. Съезда физиологов с международным участием. Красноярск, 2012. С.120.
3. **Галямина А.Г.**, Шурлыгина А.В., Мельникова Е.В., Пантелеева Н.Г., Тендитник М.В., Труфакин В.А, Кудрявцева Н.Н. Влияние ронколейкина на иммунную недостаточность и тревожно-депрессивное состояние, вызванное хроническим социальным стрессом у самцов мышей. / «Фундаментальные науки-медицине» -2012. Новосибирск, 2013. С. 122-123.
4. **Galyamina A. G.**, Kovalenko I. L., Kudryavtseva N. N. Effects of chronic diazepam and clomipramine treatment on mixed anxiety/depression conditions in male mice. // 26th Congress of

European College of Neuropsychopharmacology. Barcelona, Spain, 2013. S311

5. Kovalenko I. L., Smagin D. A., Galyamina A. G., Kudryavtseva N. N., Enikolopov G. N. Extended effects of chronic social stress on the behaviors of adolescents in adulthood. //26th Congress of European College of Neuropsychopharmacology. Barcelona, Spain, 2013. P.005

6. **Galyamina A.G.**, Kovalenko I.L., Kudryavtseva N.N. Relationship between anxiety and depression in the chronic social defeat stress model: pharmacological research. // The 9th International conference on bioinformatics and genome regulation and structure/system biology. Novosibirsk, 2014. International symposium human genetics. P.20.

7. Kovalenko I.L., **Galyamina A.G.**, Smagin D.A., Michurina T.V., Enikolopov G.N., Kudryavtseva N.N. Implications of hostile environment and social instability in adolescent mice. // The 9th International conference on bioinformatics and genome regulation and structure/system biology. Novosibirsk, 2014. BGRS/ International symposium human genetics. P.36.