

**На конкурс научных работ Российской ассоциации содействия науки**  
*(в рамках реализации социально значимого проекта «Научные традиции: диалог поколений»)*

**АНАЛИЗ ДИНАМИКИ ИЗМЕНЕНИЯ ПОВЕДЕНЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ  
И КОМПОНЕНТОВ ГАМКЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМ У КРЫС С  
РАЗВИВАЮЩИМСЯ ДЕПРЕССИВНО-ПОДОБНЫМ СОСТОЯНИЕМ**

Автор: Горлова Анна Вячеславовна., аспирант, биологический  
факультет МГУ им. Ломоносова

24/06/2017

Москва

На сегодняшний день депрессивное расстройство является самым распространенным психическим заболеванием. Ввиду этого создание адекватной модели депрессивно-подобного состояния у экспериментальных животных, а также изучение механизмов его формирования являются актуальными проблемами современности. Одной из перспективных моделей депрессивно-подобного состояния является модель ультразвукового эмоционального стресса. В данной модели в качестве стрессового фактора выступают подающиеся случайным образом ультразвуковые частоты, в зависимости от диапазона вызывающие у крыс противоположную эмоциональную и мотивационную нагрузку: 22-25 кГц – отрицательную, 40-45 кГц - положительную. Таким образом, модель ультразвукового стресса содержит в себе наличие конфликтной ситуации и приводит к развитию хронической информационной неопределенности – основного стрессового фактора, воздействующего на человека в настоящее время. Кроме того, ещё одним выгодным отличием этой модели от большинства прочих является возможность наблюдать развитие депрессивно-подобного состояния в динамике, меняя длительность ультразвуковой экспозиции.

Известно, что развитие депрессивно-подобного состояния у экспериментальных животных сопровождается изменением поведенческого ответа в различных тестах. Также установлено, что с развитием депрессии тесно связано функционирование ГАМКергической системы, поскольку ГАМКергическая передача играет значительную роль в нейрогенезе и созревании клеток. При этом в научных работах, посвященных изучению роли данной системы в депрессии, наблюдаются противоречивые результаты, свидетельствующие о снижении либо повышении уровня ее активности. В настоящей работе для анализа роли ГАМКергической системы в депрессивно-подобных нарушениях были выбраны гиппокамп, префронтальная кора, средний мозг и миндалина, поскольку данные структуры подвергаются значительным изменениям при хроническом стрессе и последующем развитии депрессии.

Целью данной работы являлась оценка изменения поведенческого ответа экспериментальных животных и экспрессии генов, кодирующих четыре различные субъединицы ГАМКергических рецепторов в четырех выбранных структурах головного мозга в рамках модели ультразвукового стресса.

Эксперименты проводились на самцах крыс линии Sprague-Dawley. Использовали 3 опытных и контрольную группы животных по 10 особей в каждой. Опытные группы подвергались воздействию ультразвуковых волн частотой 22-45 кГц в течение 7, 14 либо 21 суток. Применение стрессового воздействия, отличающегося по длительности, позволяло проверить гипотезу о наличии последовательных стадий развития депрессивно-подобного состояния. Все животные содержались в индивидуальных клетках на протяжении всего эксперимента. После завершения ультразвуковой экспозиции проводили тест «Резидент-интродер», тест «Приподнятый крестообразный лабиринт», направленный на оценивание тревожности, а также классический тест на определение наличия депрессивно-подобного состояния: тест на предпочтение сахарозы. В тесте «Резидент-интродер» в домашнюю клетку экспериментальных животных помещали самцов беспородных крыс схожего веса и возраста и регистрировали суммарную продолжительность социальных и агрессивных взаимодействий. В тесте «Приподнятый

крестообразный лабиринт» животное помещали в установку, состоящую из центральной площадки, двух открытых и двух закрытых рукавов и регистрировали суммарное время нахождения в каждом из отсеков. В тесте потребления сахарозы в течение 24 часов регистрировали суммарное количество выпитой воды и 20%-го раствора сахарозы, после чего рассчитывали предпочтение сахарозы в процентах по отношению к общему объему выпитой жидкости.

По окончании экспериментального воздействия животных глубоко наркотизировали, затем проводили декапитацию, извлекали головной мозг и на холодной подложке выделяли гиппокамп, префронтальную кору, средний мозг и миндалину, после чего проводили выделение тотальной РНК, обратную транскрипцию и ПЦР в реальном времени. Для исследования были выбраны гены GABRA1, GABRA2 и GABRA3 и GABRB2, а в качестве референсного гена – ген GAPDH. Относительную экспрессию генов рассчитывали по методу  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ .

У крыс, подвергавшихся ультразвуковому воздействию в течение 2 и 3 недель, зарегистрировали статистически значимое снижение индекса предпочтения сахарозы, свидетельствующего о наличии ангедонии. Также у этих групп зарегистрировали снижение исследовательской активности в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», выразившееся в снижении числа стоек и выглядываний из закрытых рукавов. При этом не наблюдалось различий между группами во времени, проведенном в открытых рукавах. Интересно то, что значимое снижение суммарного времени социального взаимодействия в тесте «Резидент-интродер» наблюдалось уже после 1 недели ультразвукового стрессирования. Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод о том, что в развитии депрессивно-подобного состояния можно выделить последовательно развивающиеся изменения, причем прежде всего наблюдаются нарушения сферы социального взаимодействия. Этот факт подчеркивает валидность применяемой модели, поскольку известно, что одним из признаков клинической депрессии человека является социальная изоляция.

По результатам анализа экспрессии генов обнаружили, что в среднем мозге и миндалине наблюдается последовательное падение экспрессии генов GABRA1, GABRA2 и GABRA3 в зависимости от длительности ультразвуковой экспозиции. Аналогичное падение уровня экспрессии наблюдается у генов GABRA1 и GABRA3 в префронтальной коре. При этом экспрессия гена GABRA2 в префронтальной коре, а также экспрессия генов GABRA1, GABRA2 и GABRA3 в гиппокампе подвергается колебаниям. Дисбаланс данного показателя также можно рассматривать как следствие стрессового воздействия, причем, вероятно, именно колебания уровня экспрессии исследуемых генов по мере развития депрессивно-подобного состояния могут приводить к противоречивым результатам их изучения в прочих моделях депрессивно-подобных нарушений. Ген GABRB2 оказался не ассоциирован с развитием данной патологии.

Таким образом, была показана динамика развития депрессивно-подобного состояния экспериментальных животных в модели хронического ультразвукового воздействия. Полученные результаты могут стать основой для дальнейших исследований,

направленных на более точный подбор терапии в зависимости от стадии развития клинической депрессии.