

## ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ХРОНИЧЕСКОГО НЕПРЕДСКАЗУЕМОГО СТРЕССА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЕПРЕССИВНО ПОДОБНОГО СОСТОЯНИЯ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

© 2025 г. О. В. Надей<sup>1,\*</sup>, Е. С. Прокопенко<sup>1,2</sup>, Н. И. Агалакова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,  
Санкт-Петербург, Россия*

<sup>2</sup>*Санкт-Петербургский государственный университет,  
Санкт-Петербург, Россия*

*\*E-mail: olganadej@gmail.com*

Поступила в редакцию 29.09.2024 г.

После доработки 27.10.2024 г.

Принята к публикации 28.10.2024 г.

Целью работы было определить оптимальную длительность процедуры хронического непредсказуемого стресса (ХНС) для формирования депрессивно подобного состояния (ДПС) у крыс разного возраста. Самцы крыс Wistar в возрасте 6 недель (условно названные молодыми), 10 месяцев (взрослые) и 20 месяцев (старые) были разделены на контрольные и экспериментальные группы. ДПС индуцировали с помощью процедуры ХНС, для чего животным в течение 4 или 7 недель предъявляли чередующиеся короткие и длительные стрессовые стимулы. Гедонический статус животных оценивали по изменению предпочтения потребления сахарозы, развитие ДПС – с помощью тестов «открытое поле» и вынужденного плавания, а также по содержанию кортикостерона в плазме крови. У крыс из всех возрастных групп, подвергавшихся действию ХНС, снижение предпочтения сахарозы наблюдалось, начиная с 4-й недели, однако все особи были классифицированы как ангедоноподобные после 7 недель стрессирования. Более длительное воздействие хронического стресса привело к снижению исследовательской активности и увеличению тревожности у животных всех возрастов в тесте «открытое поле». В тесте вынужденного плавания признаки поведенческого отчаяния – снижение периода задержки до первого эпизода неподвижности и увеличение общего времени неподвижности – также были более очевидны у крыс, подвергавшихся стрессу в течение 7 недель. Кроме того, молодые крысы, подвергшиеся процедуре ХНС, демонстрировали более значительные нарушения поведения, чем взрослые и старые особи. В плазме крови всех крыс, подвергавшихся ХНС в течение 7 недель, наблюдалось достоверное увеличение концентрации кортикостерона, характерное для ДПС. Таким образом, результаты всех тестов показали, что для развития ДПС у самцов крыс Wistar необходима более длительная процедура ХНС, а молодые особи более восприимчивы к действию хронического стресса.

*Ключевые слова:* крысы, депрессивно подобное состояние, хронический непредсказуемый стресс, ангедония, тест «открытое поле», тест вынужденного плавания, кортикостерон

## ВВЕДЕНИЕ

Расстройства депрессивного спектра, в том числе большое депрессивное расстройство (БДР), являются наиболее распространенными нервно-психическими состояниями, затрагивающими 250–300 миллионов человек во всем мире, причем в некоторых странах мира в определенные моменты жизни депрессивные эпизоды переносят более 30% населения [1–3]. Одно из эпидемиологических исследований, проведенное в 18 странах с использованием критериев DSM-IV (ВОЗ), показало, что распространенность глубокой депрессии в течение средней продолжительности жизни и за 12 месяцев составила 14.6% и 5.5% в странах с высоким уровнем дохода и 11.1% и 5.9% в странах с низким и средним уровнем дохода соответственно [4]. Используя шкалу HADS (Hospital Anxiety and Depression Scale), общая распространенность депрессивных состояний у населения 10 регионов России в возрасте от 25 до 64 лет была оценена как 25.6% [5]. Депрессивные расстройства занимают лидирующие позиции среди причин снижения работоспособности, разнообразных функциональных нарушений организма, риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, инвалидности, измеряемой количеством лет жизни с поправкой на нетрудоспособность, и смертности от всех причин и являются одной из первых по значимости проблем общественного здравоохранения, имеющей серьезные социальные и экономические последствия [6].

Причинами развития депрессии могут быть генетическая предрасположенность, экономические и социальные условия, ранние травмы и стресс, а распространенность и тяжесть депрессивных состояний зависят от возраста [3, 6, 7]. У людей с БДР возрастные различия выражаются следующим образом: для подростков более характерны вегетативные симптомы, такие как изменение веса, потеря аппетита, энергии и бессонница, для взрослых людей более характерна ангедония, апатия и проблемы с концентрацией [6, 8]. У детей и подростков это заболевание часто связано с нарушением нормального развития и функционирования некоторых областей мозга [8]. Хотя различия проявления БДР у людей из разных возрастных групп подтверждены статистически, нейробиологические причины этого остаются малопонятными. Работы, посвященные изучению возрастных особенностей депрессивно подобного состояния (ДПС) у грызунов, также немногочисленны. Поэтому исследование механизмов развития ДПС у животных разного возраста может дополнить наши представления о специфике восприимчивости к стрессовым воздействиям при старении.

Общепризнанным способом моделирования ДПС у животных является процедура хронического непредсказуемого стресса (ХНС, chronic unpredictable mild stress, UCMS) [9]. Люди постоянно подвергаются воздействию неконтролируемых мультимодальных стрессовых факторов, характер, силу и вероятность которых они не могут предсказать, поэтому особенности проявления состояния, индуцированного ХНС у грызунов, совпадает с этиологией БДР у человека [10]. ХНС вызывает у животных основные симптомы депрессии – ангедонию, тревожность, нарушение сна, пищевого и социального поведения, снижение когнитивных функций, т. е. имитирует ключевые поведенческие и ментальные симптомы БДР, что свидетельствует о высокой внешней и этиологической валидности модели. Однако у процедуры ХНС есть ряд ограничений, в частности, крысы разного возраста по-разному реагируют на предъявляемые стрессовые стимулы [11, 12]. Кроме того, результаты часто плохо воспроизводятся из-за достаточно высокой чувствительности к изменениям в дизайне ХНС – набору стрессоров и длительности протокола, которая может варьировать от 2 до 8 недель [10–12]. Поэтому работа с животными разных возрастных групп требует более тщательного подхода к выбору комбинации стрессоров и продолжительности процедуры. Целью данного исследования было оценить восприимчивость крыс разного возраста к ХНС и сравнить эффективность развития ДПС после разного времени стрессирования.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

*Животные.* Объектами исследования были самцы крыс линии Wistar разного возраста. Животные были получены из вивария Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН и содержались в помещении, где поддерживалась температура 22–25°C и 12-часовой цикл свет/темнота. Вода и пища находились в свободном доступе. Корм, состоящий из натуральных ингредиентов, соответствовал потребностям животных в питательных веществах.

*Моделирование депрессивно подобного состояния.* Для уменьшения базового уровня стресса от взаимодействия с человеком и контрольных, и экспериментальных животных, начиная с 4-недельного возраста, приучали к рукам. За 2 недели до начала эксперимента крыс дважды в неделю на 2 ч переносили в помещение, где в дальнейшем проводилось тестирование, для привыкания к новому окружению.

ДПС у крыс индуцировали с помощью процедуры ХНС. В работе использовали животных, для которых процедура ХНС начиналась в возрасте 6 недель, 10 и 20 месяцев. 6-недельные крысы были условно названы «молодыми», 10-месячные – «взрослыми», а 20-месячные – «старыми». Животные каждого возраста были разделены на группы случайным образом. В контрольной и опытной группах молодых и взрослых крыс было по 10 особей, в группах старых животных – по 14 особей. Далее крыс каждого возраста делили на 2 подгруппы, для которых применяли протокол ХНС в течение 4 или 7 недель. Соответственно в каждой возрастной группе было по 4 подгруппы – животные, подвергавшиеся ХНС в течение 4 недель, и соответствующая контрольная подгруппа и крысы, подвергавшиеся стрессу в течение 7 недель с контрольной подгруппой. Данные изменения массы тела и теста предпочтения сахарозы по первым 4 неделям эксперимента представлены для всех животных (из ХНС и контрольных подгрупп, 4 и 7 недель,  $n = 10-14$ ), а начиная с 5-й недели – только для животных из подгруппы 7 недель ХНС и соответствующего контроля ( $n = 5-7$ ).

Перед началом моделирования ДПС всех животных взвешивали и определяли базальный уровень предпочтения сахарозы, что позволяло судить о дальнейших изменениях гедонического статуса для каждой крысы. Затем в течение 4 или 7 недель животным предъявляли 14 вариантов чередующихся коротких и длительных умеренно стрессовых стимулов. В течение суток применяли два варианта стрессоров, один и тот же стрессор не повторялся в течение недели. Короткие стимулы включали сдерживающий стресс (помещение в рестрейнер на 1 ч), внутримышечные инъекции 0.9%-ного раствора NaCl, плавание в холодной (15°C) или горячей (40°C) воде на протяжении 5 или 10 мин, защемление хвоста на 1 мин, нерегулярное освещение, сменявшееся каждые 0.5–2 ч, помещение на качающуюся платформу или шейкер на 1 ч. Длительные стрессоры включали наклон клетки на 45° в течение суток, нарушение цикла света и темноты, социальную скученность на протяжении 24 ч, пищевую депривацию на сутки, водную депривацию на 24 ч (в течение 23 ч у животных вообще не было поилки, а затем на 1 ч им помещали пустую бутылку), социальную изоляцию на сутки; влажную подстилку на 24 ч (300 мл воды), непрерывное освещение на протяжении 36 ч. После окончания процедуры ХНС каждую крысу проверяли на наличие ДПС, применяя два поведенческих теста.

*Тест предпочтения сахарозы.* Для оценки гедонического статуса крыс (как контрольных, так и подвергаемых ХНС) раз в неделю проводили тест предпочтения сахарозы каждой особью по сравнению с базальным уровнем. На сутки каждое животное помещали в отдельную клетку, идентичную домашней, предоставляя свободный доступ к еде и двум поилкам – с водой и 1%-ным раствором сахарозы. Через сутки крыс возвращали в общие клетки и определяли объемы выпитой воды и раствора сахарозы. Потребление сахарозы рассчитывали по отношению объема выпитого раствора сахарозы к объему выпитой жидкости (вода + сахароза), выраженному в процентах. Гедо-

нический статус каждой крысы определяли в конце эксперимента на основе изменения потребления сахарозы по сравнению с базальным уровнем (усредненное значение предпочтения сахарозы в течение трех дней до начала проведения процедуры ХНС). Гедоноподобными считали крыс, у которых уровень предпочтения сахарозы снижался не более чем на 10%, ангедоноподобными – у которых предпочтение снижалось более чем на 20%, остальных относили к неклассифицируемым (уровень предпочтения сахарозы снижался больше чем на 10%, но меньше чем на 20%).

*Тест «открытое поле».* Тестирование проводили в квадратной установке (100 × 100 см) из ПВХ, огороженной бортиком высотой 40 см. Поле было разделено на 25 условных квадратов (5 × 5) одинакового размера (20 × 20 см), центральная зона включала 9 центральных квадратов, не имеющих бортика. Поле было ярко освещено, лампа (50 Вт) была размещена над центральным квадратом таким образом, чтобы периферические квадраты (находящиеся у бортиков) практически не освещались. За 60 мин до начала тестирования животных помещали в комнату, где находится установка, и не применяли никаких активных манипуляций для исключения стресса от новых условий. В начале тестирования крысу помещали в центр поля и регистрировали поведение в течение 5 мин. Анализировали время, проведенное в центральной и периферической зонах, дистанцию, пройденную в этих зонах, количество входов в центральную зону и количество стоек (вертикальную двигательную активность).

*Тест вынужденного плавания.* Тест Порсолта, также называемый тестом “вынужденного плавания”, проводили через день после теста «открытое поле». Для тестирования использовали стеклянные цилиндры диаметром 30 см, высота столба жидкости составляла 40 см, температура воды поддерживалась на уровне 25°C. За сутки до тестирования проводили пре-тест: животных по одному помещали в сосуды с водой на 5 мин для адаптации к воде. В день тестирования каждую крысу помещали в сосуд на 5 мин таким образом, чтобы она не могла выбраться из него или коснуться лапами дна, не погрузившись под воду полностью. Во время тестирования регистрировали такие параметры как «период задержки перед первым эпизодом неподвижности» и «общее время неподвижности». Под неподвижностью подразумевалась почти полная неподвижность, когда крысы не проявляли дополнительной активности, кроме небольших движений лапами, необходимых для удержания носа и глаз над водой. Депрессивно подобное поведение определялось как увеличение времени неподвижности и сокращение периода до первого эпизода неподвижности.

Все поведенческие тесты фиксировали на камеру Nikon D3100 (Nikon, Япония), после чего результаты анализировали вручную или в программе Any-maze (San Diego Instruments, США).

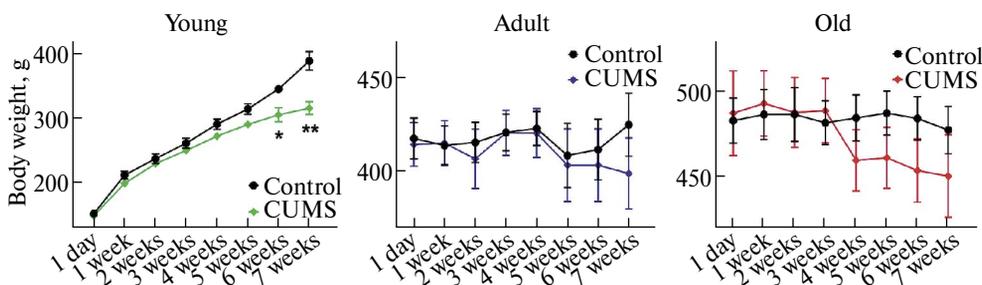
*Измерение массы надпочечников и определение содержания кортикостерона в плазме крови.* Через сутки после последнего тестирования крысам внутрибрюшинно вводили Золетил-100 (50 мг/кг массы тела), а затем выводили из эксперимента путем обескровливания после рассечения брюшной аорты. Извлекали надпочечники и измеряли их массу. Кровь собирали в пробирки с гепарином и центрифугировали при 3000 g в течение 15 мин при температуре 4°C. Полученную плазму крови отбирали для дальнейшего анализа. Содержание кортикостерона определяли методом иммуноферментного анализа с конкурентным ингибированием (ELISA) при помощи набора Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kit For Corticosterone (Cort) (Cloud-Clone Corp., США). Исследование каждой пробы проводилось в двух повторностях. Интенсивность окраски, обратно пропорциональную уровню кортикостерона, анализировали при длине волны 450 нм на мультимодальном ридере CLARIOstar Plus multimodal reader (BMG LABTECH, Германия).

*Статистическая обработка.* Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе GraphPad Prism 8.1 (США). Нормальность распределения данных оценивали с помощью критерия Шапиро–Уилка, выбросы выявляли с помощью

критерия Рауса с достоверностью  $\alpha = 0.05$ . Для определения статистически значимых различий между группами использовали двухфакторный анализ ANOVA с апостериорным критерием Sidak's, unpaired *t*-test или U-критерий Mann–Whitney. Статистически значимыми считались различия с  $p < 0.05$ . Полученные результаты представлены в виде средних значений  $\pm$  стандартные ошибки средних (*SE*).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В течение всего эксперимента у животных не наблюдалось каких-либо признаков нездоровья или заболеваний. Средняя масса тела молодых крыс, для которых эксперимент начался в возрасте 6 недель, статистически значимо снижалась после 6 недель процедуры ХНС (рис. 1). Однако масса тела взрослых (10 месяцев) и старых (20 месяцев) крыс, подвергавшихся действию стрессовых стимулов, не отличалась от таковой, полученной для соответствующих контрольных групп, на протяжении всего эксперимента (рис. 1). В группе старых крыс, начиная с 4-й недели ХНС, наблюдалось некоторое снижение массы тела, однако из-за высокой вариабельности данных оно не было статистически достоверным.



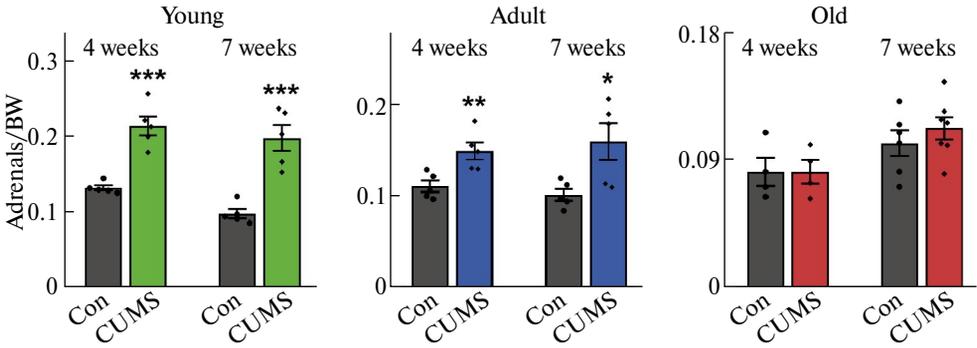
**Рис. 1.** Изменения массы тела крыс на протяжении моделирования ДПС с помощью процедуры ХНС. Control – контроль, CUMS – ХНС. Представлены средние значения  $\pm$  *SE* ( $n = 10-14$  для 4 недель и 5–7 для 7 недель). \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  по сравнению с соответствующим контролем (two-way mixed ANOVA).

Отношение массы надпочечников к массе тела увеличивалось у молодых и взрослых крыс по сравнению с таковым у животных из контрольных групп как после 4, так и после 7 недель действия ХНС, причем у молодых крыс эта разница была более существенной (рис. 2). Однако у старых крыс этот параметр не изменялся после действия обоих временных вариантов стресса.

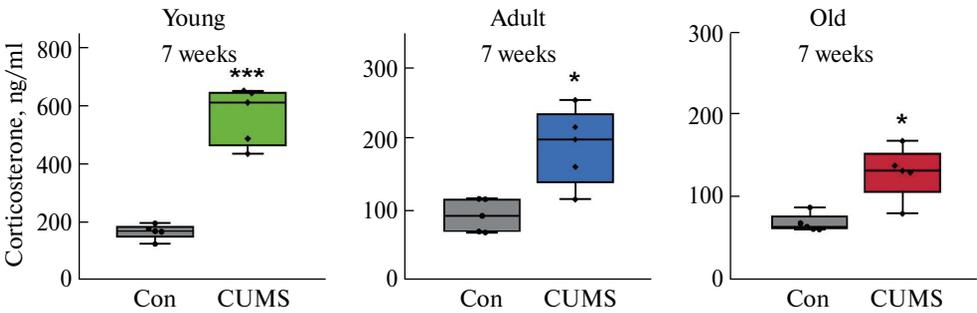
В плазме крови всех животных, подвергавшихся 7-недельной процедуре ХНС, наблюдалось достоверное увеличение концентрации кортикостерона (рис. 3), что в совокупности с увеличением массы надпочечников говорит о нарушении в работе гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГН), которое характерно для больных, страдающих БДР.

Контрольные крысы разного возраста предпочитали раствор сахарозы на протяжении всего эксперимента (рис. 4). Однако у животных из всех возрастных групп, подвергшихся действию ХНС, наблюдалось достоверное снижение потребления раствора сахарозы, начиная с 4-й недели. Кроме того, у 20-месячных грызунов предпочтение сахарозы резко снижалось после одной недели стрессирования (рис. 4). Вероятнее всего, такой эффект может быть связан с реакцией на изоляцию во время проведения теста и косвенно говорить о большей восприимчивости к острому стрессу животных из этой возрастной группы.

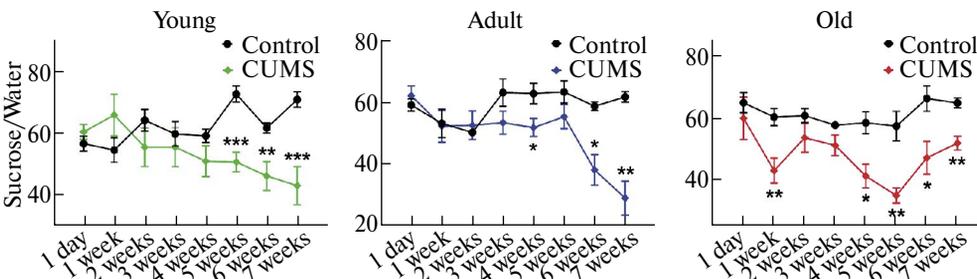
При этом среднее потребление сахарозы крысами из всех возрастных групп, подвергавшихся действию ХНС, снижалось на 20–50% по сравнению с базальным уровнем.



**Рис. 2.** Отношение массы надпочечников к массе тела крыс после процедуры ХНС. Представлены средние значения  $\pm SE$  ( $n = 5$  для 4 недель и 5–7 для 7 недель). \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$  по сравнению с соответствующим контролем (unpaired  $t$ -test).



**Рис. 3.** Уровни кортикостерона в плазме крови крыс разного возраста после действия ХНС. Представлены средние значения  $\pm SE$  ( $n = 5$ ). \*  $p < 0.05$ , \*\*\*  $p < 0.001$  по сравнению с соответствующим контролем (Mann-Whitney test).



**Рис. 4.** Результаты теста потребления сахарозы крысами из всех возрастных групп. Представлены средние значения  $\pm SE$  ( $n = 10$  для 4 недель и  $n = 5$  для 7 недель). \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  по сравнению с соответствующим контролем (two-way mixed ANOVA).

нем (табл. 1). Однако 4 недели стрессирования оказалось недостаточно для развития ангедонии у всех взрослых и старых животных. После 7 недель стрессирования все крысы, подверженные ХНС и участвующие в дальнейшем исследовании, были классифицированы как ангедоноподобные.

В тесте «открытое поле» как для взрослых, так и для пожилых крыс, подвергавшихся 4-недельной процедуре ХНС, статистически значимых изменений времени, проведенно-

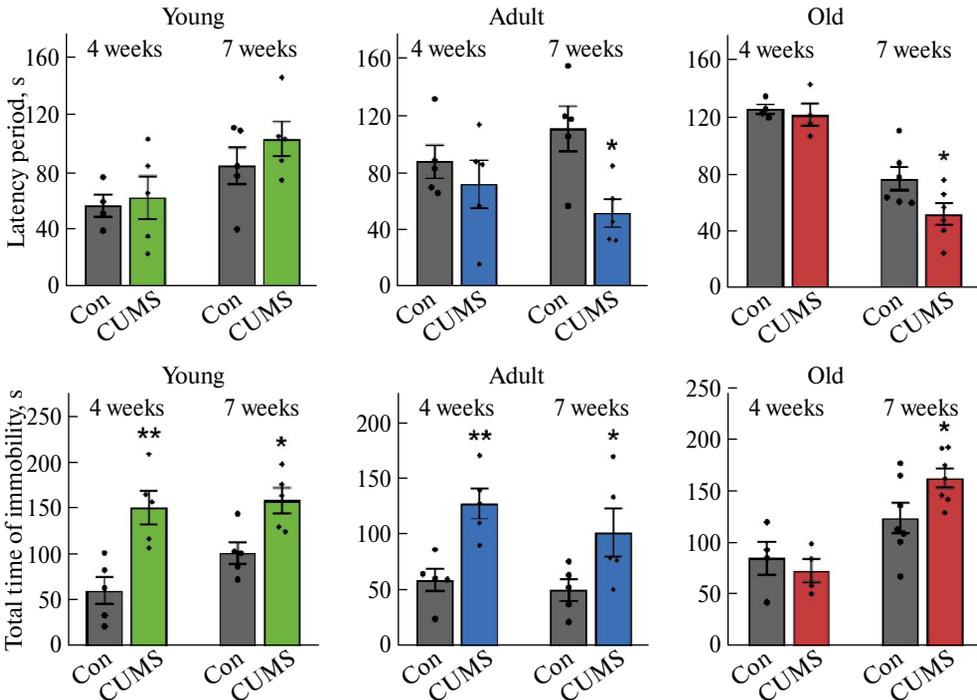
**Таблица 1.** Средние значения изменения предпочтения потребления сахарозы относительно базального уровня для каждой крысы из разных возрастных групп

| Продолжительность ХНС | Возраст  | Группа   | Базальное предпочтение сахарозы (сахароза/вода) | Финальное предпочтение сахарозы (сахароза/вода) | Среднее снижение предпочтения сахарозы (от базального) | Число ангедонических животных (снижение предпочтения сахарозы > 20 % от базального уровня) | Число гедонических животных (снижение предпочтения сахарозы < 10 % от базального уровня) | Число неклассифицируемых животных (снижение предпочтения сахарозы от 10 до 20 %) |
|-----------------------|----------|----------|---|---|--|--|--|--|
|                       |          |          |   |   |  |  |  |  |
| 4 недели              | Молодые  | Контроль | 61.9 ± 2.9                                      | 64.2 ± 2.1                                      | -4.6 ± 3.6   | 0  | 5  | 0  |
|                       |          | ХНС      | 59.0 ± 0.7                                      | 40.3 ± 2.9                                      | 35.8 ± 3.6   | 5  | 0  | 0  |
|                       | Взрослые | Контроль | 53.2 ± 1.0                                      | 54.2 ± 1.1                                      | -1.9 ± 1.9   | 0  | 5  | 0  |
|                       |          | ХНС      | 55.8 ± 2.6                                      | 44.8 ± 2.1                                      | 19.5 ± 3.4   | 2  | 0  | 3  |
|                       | Старые   | Контроль | 63.2 ± 2.5                                      | 62.3 ± 3.0                                      | 1.3 ± 2.6  | 0  | 5  | 0  |
|                       |          | ХНС      | 55.7 ± 1.4                                      | 43.6 ± 1.7                                      | 21.6 ± 2.8   | 3  | 1  | 1  |
| 7 неделя              | Молодые  | Контроль | 62.7 ± 2.7                                      | 64.8 ± 2.3                                      | -3.5 ± 1.0   | 0  | 5  | 0  |
|                       |          | ХНС      | 67.8 ± 2.6                                      | 37.3 ± 2.0                                      | 44.7 ± 3.4   | 5  | 0  | 0  |
|                       | Взрослые | Контроль | 63.4 ± 1.3                                      | 61.6 ± 1.7                                      | 2.9 ± 1.4  | 0  | 5  | 0  |
|                       |          | ХНС      | 68.8 ± 2.3                                      | 30.0 ± 3.6                                      | 57.5 ± 4.5   | 5  | 0  | 0  |
|                       | Старые   | Контроль | 59.4 ± 1.3                                      | 64.8 ± 1.6                                      | -5.1 ± 1.2   | 0  | 5  | 0  |
|                       |          | ХНС      | 61.3 ± 2.4                                      | 43.4 ± 3.2                                      | 29.6 ± 3.2   | 5  | 0  | 0  |

Примечание. Представлены средние значения ± SE (n = 5).

го в центральной зоне, дистанции, пройденной в этой зоне, количества входов в центр арены и общего времени неподвижности не было выявлено (табл. 2). В то же время у молодых крыс после 4 недель стрессирования достоверно увеличивались общая пройденная дистанция, дистанция, пройденная в центральной и периферической зоне, количество входов в центр арены и количество стоек, что указывает на повышение двигательной активности животных. В целом результаты теста указывают на то, что 4 недели процедуры ХНС недостаточно для развития тревожности и снижения двигательной активности, характерных для ДПС, у животных из всех возрастных групп. У молодых и взрослых крыс увеличение времени стрессирования до 7 недель привело к статистически значимому снижению дистанции, проведенной в центральной зоне, времени в центре арены, а также увеличению времени, проведенного в периферической зоне, и дистанции, пройденной в этой зоне, что свидетельствует о повышении тревожности и нарушении двигательной активности, характерных для ДПС. Кроме того, у молодых животных 7 недель ХНС привело к снижению числа входов в центр арены и увеличению задержки до первого входа, то есть крысы этого возраста были наиболее подвержены воздействию стрессоров. У взрослых крыс протокол стрессирования длительностью 7 недель привел к статистически значимому увеличению времени, проведенного в периферической зоне, дистанции, пройденной в этой зоне, и к сокращению периода нахождения в центре арены. Количество входов в центр арены и время, проведенное в центральной зоне, также снижались, но не достигли статистической значимости.

При проведении теста Порсолта (вынужденного плавания) у крыс из всех возрастных групп, подвергавшихся процедуре ХНС в течение 4 недель, не было выявлено статистически значимых изменений во времени задержки до первого эпизода неподвижности по сравнению с особями из соответствующих контрольных групп (рис. 5).



**Рис. 5.** Суммарное время неподвижности и период задержки перед первым эпизодом неподвижности крыс разного возраста после 4 и 7 недель ХНС. Представлены средние значения  $\pm$  SE ( $n = 5-7$ ). \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$  по сравнению с соответствующим контролем (unpaired  $t$ -test).

Таблица 2. Параметры теста «открытое поле» для крыс из разных возрастных групп

|   | Молодые    |                    |             | Взрослые            |            |                   | Старые     |                     |             |                    |             |                    |
|---|------------|--------------------|-------------|---------------------|------------|-------------------|------------|---------------------|-------------|--------------------|-------------|--------------------|
|   | 4 недели   |                    | 7 недель    | 4 недели            |            | 7 недель          | 4 недели   |                     | 7 недель    |                    |             |                    |
|   | Контроль   | ХНС                | Контроль    | ХНС                 | Контроль   | ХНС               | Контроль   | ХНС                 | Контроль    | ХНС                |             |                    |
| Общая дистанция (м)                     | 10.3 ± 0.9 | <b>17.9 ± 2.3*</b> | 15.6 ± 1.2  | 17.0 ± 0.6          | 7.7 ± 1.2  | 9.8 ± 1.7         | 10.1 ± 0.9 | 8.2 ± 1.4           | 7.3 ± 1.4   | 9.8 ± 1.1          | 12.6 ± 1.9  |                    |
| Дистанция в центральной зоне (м)        | 0.3 ± 0.1  | <b>1.7 ± 0.3**</b> | 2.5 ± 0.1   | <b>0.8 ± 0.1***</b> | 0.9 ± 0.3  | 0.9 ± 0.2         | 1.0 ± 0.1  | 0.4 ± 0.4           | 0.5 ± 0.1   | 0.4 ± 0.1          | 0.4 ± 0.1   |                    |
| Время в центральной зоне (с)            | 12.8 ± 1.5 | 18.0 ± 4.2         | 42.6 ± 5.2  | <b>9.2 ± 2.9***</b> | 18.0 ± 2.8 | 19.6 ± 3.6        | 9.6 ± 1.4  | <b>1.7 ± 0.9**</b>  | 14.7 ± 2.9  | 16.0 ± 5.2         | 14.0 ± 2.4  | 8.9 ± 1.6          |
| Дистанция в периферической зоне (м)     | 9.9 ± 0.8  | <b>16.3 ± 2.1*</b> | 13.1 ± 1.2  | <b>16.2 ± 0.6*</b>  | 5.5 ± 0.7  | <b>9.1 ± 1.1*</b> | 5.7 ± 1.1  | <b>11.5 ± 0.9**</b> | 7.8 ± 1.4   | 5.9 ± 0.8          | 7.0 ± 0.6   | <b>11.6 ± 1.6*</b> |
| Время в периферической зоне (с)         | 284 ± 1    | 279 ± 4            | 246 ± 5     | <b>290 ± 3***</b>   | 272 ± 4    | 276 ± 3.7         | 289 ± 2.4  | <b>297 ± 1*</b>     | 290 ± 3     | 279 ± 6            | 278 ± 4     | <b>289 ± 1.8*</b>  |
| Число входов в центральную зону         | 0.2 ± 0.2  | <b>1.4 ± 0.2**</b> | 2.2 ± 0.4   | <b>0.2 ± 0.2**</b>  | 0.8 ± 0.4  | 0.8 ± 0.4         | 0.8 ± 0.4  | 0.4 ± 0.2           | 0.4 ± 0.2   | 0.8 ± 0.4          | 1.0 ± 0.4   | 0.4 ± 0.3          |
| Время в центральной зоне                | 5.2 ± 1.0  | <b>2.4 ± 0.5*</b>  | 10.6 ± 0.9  | <b>0.6 ± 0.6***</b> | 5.4 ± 1.0  | 4.2 ± 0.8         | 4.2 ± 0.8  | <b>1.4 ± 0.4*</b>   | 4.6 ± 1.5   | 8.6 ± 2.0          | 7.7 ± 2.1   | <b>1.7 ± 0.4*</b>  |
| Число стоек                             | 15.6 ± 2.9 | <b>25.2 ± 2.6*</b> | 26.0 ± 1.8  | <b>19.6 ± 0.8**</b> | 18.2 ± 2.2 | 17.6 ± 2.9        | 9.6 ± 2.5  | 13.0 ± 1.2          | 19.6 ± 2.7  | <b>7.5 ± 0.9**</b> | 15.6 ± 3.8  | 12.1 ± 2.4         |
| Время полной неподвижности              | 11.8 ± 1.7 | 9.7 ± 0.8          | 1.0 ± 0.6   | <b>15.6 ± 5.0*</b>  | 25.6 ± 6.9 | 47.6 ± 7.6        | 24.4 ± 5.9 | 20.0 ± 6.2          | 51.2 ± 10.7 | 36.2 ± 6.8         | 65.2 ± 10.2 | 93.4 ± 16.6        |
| Задержка до первого входа в центр арены | 248 ± 52   | 115 ± 49           | 98.8 ± 33.2 | <b>273 ± 26**</b>   | 52.8 ± 9.3 | <b>200 ± 42**</b> | 185 ± 49   | 274 ± 19            | 299 ± 1     | 155 ± 65           | 236 ± 44    | 257 ± 28           |

Примечание. Представлены средние значения ± SE (n = 5-7). \* p < 0.05, \*\* p < 0.01, \*\*\* p < 0.001 по сравнению с соответствующим контролем (unpaired t-test). Жирным шрифтом выделены статистически значимые изменения.

Однако после 4 недель стрессирования для молодых и взрослых животных было характерно увеличение времени неподвижности по сравнению с контрольными грызунами, в отличие от старых животных, у которых этот параметр не изменялся. После 7 недель действия ХНС в группах взрослых и старых животных статистически значимо снижался период задержки до первого эпизода неподвижности (рис. 5). Кроме того, более длительное стрессовое воздействие привело к достоверному увеличению общего времени неподвижности у крыс из всех возрастных групп. Такое поведение свидетельствует о большей склонности к пассивной стратегии переживания стресса и состояния «поведенческого отчаяния», характерного для ДПС.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Депрессия – состояние, характеризующееся стойкой психической и моторной заторможенностью, негативной оценкой самого себя, неспособностью получать удовольствие (ангедонией), нарушением сна и аппетита, мотивационным и когнитивнопсихологическим дефицитом, вегетативными нарушениями и саморазрушительным поведением [13, 14]. В настоящее время для изучения патофизиологии ДПС у животных используются несколько моделей – модель выученной беспомощности, модели, основанные на изменении социальной среды (социальная изоляция, социальное поражение), на отлучении детеныша от матери, хирургическая бульбэктомия, а также генетические и фармакологические модели [13, 15, 16]. Однако ни одна из этих моделей не является совершенной из-за сложности диагностики и не до конца ясного патогенеза этого заболевания.

Для данного исследования был выбран метод индукции депрессивно подобного состояния у крыс с помощью процедуры непредсказуемого хронического стресса. Моделирование ДПС с помощью ХНС основано на том, что постоянное предъявление непредсказуемых стрессоров низкого уровня, подобных тем, которые человек может испытывать в повседневной жизни, способно вызывать депрессию у экспериментальных животных, что согласуется с одной из гипотез развития этого заболевания у людей [9, 10, 17]. ХНС приводит к широкому спектру поведенческих нарушений, включая снижение предпочтения сахарозы и мотивации к поощрительным стимулам наряду с повышенной агрессией, поведение, похожее на тревогу, нарушение режима сна. Депрессивно подобные изменения в поведении устраняются хроническим воздействием стандартных антидепрессантов [18, 19], что указывает на фармакологическую чувствительность вызванной ХНС патологии и подтверждает валидность этой модели ДПС у грызунов.

Среди преимуществ ХНС можно отметить длительное сохранение смоделированного ДПС. Среди основных недостатков — трудоемкость и достаточно высокая чувствительность к изменениям в дизайне, что часто связано со сложностью воспроизведения протокола разными лабораториями [10, 11, 17]. Кроме того, большинство исследований по моделированию ДПС было проведено на молодых животных (7–8 недель) с использованием стандартной длительности процедуры ХНС – 4 недели. Однако на восприимчивость хронического стресса влияет не только генетическая линия, но и возраст животных [11, 12]. Так, у ювенильных особей после воздействия ХНС отмечалось менее выраженное ухудшение памяти и тревожное поведение даже при увеличении периода стрессирования вдвое. Помимо этого, ХНС в молодом возрасте способствует более успешному переживанию стресса во взрослом, и взрослое животное, пережившее стресс в ювенильном возрасте, может не проявлять признаков депрессивно подобного поведения, если снова подвергать его ХНС [20]. Однако в другом исследовании молодые крысы (PND40, post natal day) были более восприимчивы к 2-недельному хроническому стрессу, предположительно из-за лучшей реактивности ГГН оси, опосредуя более длительную и сильную реакцию на стресс, что еще раз подтверждает важность выбора оптимальной длительности протокола ХНС [12].

Одним из наиболее характерных признаков эффективности воздействия хронического стресса считается снижение массы тела [11], хотя литературные данные о массе тела пациентов с депрессивным расстройством (ДР) и экспериментальных животных в ДПС неоднозначны. Описаны как отсутствие значимых изменений [21], так и снижение массы тела [22, 23] или, напротив, склонность больных с ДР к ожирению [24, 25]. В попытке обобщить такие противоречивые данные появилось мнение о том, что изменение аппетита и массы тела может отражать особенности течения заболевания или служить одним из критериев для выделения подгрупп ДР [26]. Так, снижение массы тела характерно для людей с тяжелой депрессией и регистрируется в экспериментах по моделированию ДПС на животных, в частности, с помощью процедуры ХНС [22, 23]. Однако высказывалось и мнение о том, что снижение массы тела связано с предьявлением стрессоров в утреннее время, когда крысы обычно спят, что приводит к хронической депривации сна и может усиливать ДПС [27]. В то же время известно, что лишение сна оказывает антидепрессивное действие на пациентов с ДР [28]. В нашей работе статистически значимое снижение массы тела наблюдалось только у молодых крыс (рис. 1), что указывает на большую восприимчивость животных этого возраста к ХНС. Снижение массы тела старых крыс после 4 недель эксперимента также может быть реакцией на стресс, однако высокая вариабельность данных не позволяет сделать однозначный вывод.

Одним из важнейших стресс-чувствительных органов являются надпочечники, участвующие в формировании ГГН оси, функционирование которой необходимо для адаптивного ответа организма на стресс [29]. При длительном воздействии происходит гипертрофия и гиперплазия пучковой зоны коры надпочечников, что, в свою очередь, приводит к увеличению размеров и массы органа и способствует повышению секреции глюкокортикоидов [30]. Средний объем надпочечников у пациентов с ДР значительно выше, чем у здоровых людей [31]. В нашей работе моделирование ДПС с помощью процедуры ХНС длительностью как 4, так и 7 недель привело к статистически значимому увеличению массы надпочечников у молодых и взрослых крыс, в то время как в группе старых крыс не было выявлено значимых изменений (рис. 2). Хотя такие изменения могут свидетельствовать о меньшей восприимчивости пожилых крыс к стрессу, этот феномен также может быть связан с возрастными изменениями в тканях надпочечников. Например, у пожилых мышей в ответ на стресс наблюдалось снижение выработки кортикостерона и общей массы надпочечников [32]. Также было показано значительное возрастное снижение количества клеток пучковой зоны и общего веса надпочечников у пожилых людей [33].

Однако после 7 недель стрессирования в плазме крови крыс из всех возрастных групп, включая старых животных, увеличился уровень кортикостерона, основного глюкокортикоида коры надпочечников у этих животных (рис. 3). Такие изменения указывают на нарушение работы оси ГГН и соответственно способности адаптироваться к стрессу. Гиперактивность оси ГГН и избыточное высвобождение глюкокортикоидных гормонов в кровь считается важным патофизиологическим механизмом, лежащим в основе депрессии [34]. Хроническое введение кортикостерона используется для моделирования ДПС у крыс, поскольку хорошо известно, что ДР у людей и ДПС у крыс зачастую сопровождаются дисфункцией оси ГГН и повышенной секрецией глюкокортикоидов [35–37].

Ангедония – один из основных симптомов депрессивного расстройства, определяемый как потеря способности чувствовать удовольствие [38]. У подростков с ДР она является важным негативным прогностическим показателем и связана с суицидальным поведением [39]. У крыс ангедония также считается признаком ДПС, а для оценки гедонического статуса животных широко применяется тест на предпочтение сахарозы, который основан на преимущественном потреблении животными сладкого раствора, а не воды при наличии выбора [40]. В то же время ангедония характерна не только для

депрессии и наблюдается только у части пациентов с БДР. В некоторых исследованиях у подвергшихся стрессу животных снижение потребления сахарозы было недостоверным или непостоянным в течение эксперимента, поэтому воспроизводимость ангедонии часто считается недостаточной для подтверждения формирования ДПС [17, 40]. В нашей работе для развития стойкой ангедонии молодым животным было достаточно 4 недель процедуры ХНС, однако крысам других возрастных групп потребовалось 7 недель (рис. 4 и табл. 1), что свидетельствует о большей восприимчивости молодых животных к умеренным стрессорам. В то же время значимое снижение потребления сахарозы старыми крысами в первую неделю эксперимента может свидетельствовать о худшей адаптации животных этого возраста к острому стрессу.

Тест «открытое поле» оценивает исследовательское поведение и уровень тревожности животных. Он основан на том, что страх и беспокойство подавляют стремление животных исследовать новую среду, в то время как тенденция оставаться вблизи стен, избегая ярко освещенного центра арены, интерпретируется как показатель тревожности [41]. Статистически значимое снижение пройденной дистанции и времени, проведенного в центре арены, было выявлено для самцов крыс Wistar в возрасте 8 недель после 4 недель процедуры ХНС [42]. Для 9-недельных крыс Wistar, подвергшихся ХНС в течение 5 недель, также было показано достоверное снижение количества стоек и входов в центр арены [43]. Исследований по моделированию ДПС у пожилых крыс крайне мало, однако для 20-месячных крыс Wistar было характерно снижение общей пройденной дистанции после моделирования депрессии с помощью 6 недель ХНС, других параметров теста авторы не приводят [44]. В нашем исследовании в тесте «открытое поле» как у взрослых, так и у старых крыс, подвергавшихся 4-недельной процедуре ХНС, не было выявлено статистически значимых изменений основных регистрируемых в тесте параметров (табл. 2). Кроме того, хотя молодые крысы демонстрировали более значительные нарушения поведения, чем взрослые и старые животные, в целом результаты этого теста указывают на то, что 4 недель процедуры ХНС недостаточно для развития тревожности и снижения двигательной активности, характерных для ДПС, ни в одной из используемых в работе возрастных групп. У крыс всех возрастов изменения оцениваемых параметров были более очевидны после 7 недель ХНС.

Принцип теста принудительного плавания (Порсолта) основан на оценке беспомощности в стрессовой ситуации, когда животные вынуждены плавать в ограниченном пространстве, что вызывает состояние «поведенческого отчаяния» – они остаются неподвижными, изредка совершая незначительные движения лапами, чтобы избежать утопления [45]. При этом более длительное время неподвижности указывает на более выраженное депрессивно подобное поведение. Ранее было показано снижение общего времени неподвижности у молодых самцов крыс Wistar в возрасте 7-ми – 12-ти недель, подверженных 3–6 неделям ХНС [46–48], и старых в возрасте 20-ти месяцев после 6 недель ХНС [48]. В нашей работе продолжительность неподвижности после 4 недель ХНС увеличивалась только у молодых и взрослых крыс (рис. 4), в то время как после 7 недель процедуры животные из всех возрастных групп демонстрировали выраженное «поведенческое отчаяние», проявляющееся меньшим стремлением совершать активные действия в стрессовых условиях.

Таким образом, сравнительный анализ гедонического статуса и поведенческих реакций самцов крыс Wistar, проведенный в нашем исследовании, подтвердил, что время стрессирования является важнейшим фактором индукции ДПС. Кроме того, для подтверждения развития ДПС у животных необходимо применять комплекс поведенческих и биохимических тестов, так как их результаты могут сильно различаться. По результатам всех тестов 4 недель стресса оказалось недостаточно для развития ДПС. Только увеличение продолжительности процедуры ХНС до 7 недель привело к ангедонии и выраженным поведенческим изменениям у каждой крысы из всех возрастных групп. Вторым важным наблюдением нашей работы является тот факт, что молодые

крысы, для которых процедура ХНС начиналась в возрасте 6 недель, были более чувствительны к воздействию хронического стресса. Старые крысы, напротив, демонстрировали наименьшую склонность к формированию ДПС с помощью ХНС.

#### ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея исследования и дизайн эксперимента (О. В. Н., Н. И. А.), проведение экспериментов и сбор материала для исследования (О. В. Н., Е. С. П., Н. И. А.), обработка результатов (О. В. Н., Е. С. П., Н. И. А.), написание и редактирование текста (Н. И. А., О. В. Н.).

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета государственного задания № 075-00264-24-00 Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН. Исследование проведено с использованием оборудования центра коллективного пользования Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Комитетом по биоэтике Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (протокол №12-2/2023).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Moreno-Agostino D, Wu YT, Daskalopoulou C, Hasan MT, Huisman M, Prina M* (2021) Global trends in the prevalence and incidence of depression: a systematic review and meta-analysis. *J Affect Disord* 281: 235–243.  
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.12.035>
2. *Ezawa ID, Robinson N, Hollon SD* (2024) Prevalence Increases as Treatments Improve: An Evolutionary Perspective on the Treatment-Prevalence Paradox in Depression. *Annu Rev Clin Psychol* 20(1): 201–228.  
<https://doi.org/10.1146/annurev-clinpsy-080822-04044>
3. *Xu Y, Li R, Hu C, He Y, Zhang X, Jin L* (2024) Global, regional, and national incidence trends of depressive disorder, 1990–2019: An age-period-cohort analysis based on the Global Burden of Disease 2019 study. *Gen Hosp Psychiatry* 88: 51–60.  
<https://doi.org/10.1016/j.genhosppsy.2024.03.003>
4. *Bromet E, Andrade LH, Hwang I, Sampson NA, Alonso J, de Girolamo G, de Graaf R, Demyttenaere K, Hu C, Iwata N, Karam AN, Kaur J, Kostyuchenko S, Lépine JP, Levinson D, Matschinger H, Mora ME, Browne MO, Posada-Villa J, Viana MC, Williams DR, Kessler RC* (2011) Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode. *BMC Med* 9: 90.  
<https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-90>
5. *Шальнова СА, Евстифеева СЕ, Деев АД, Артамонова ГВ, Гагагонова ТМ, Дупляков ДВ, Ефанов АЮ, Жернакова ЮВ, Конради АО, Либис РА, Минаков ЭВ, Недогода СВ, Ощепкова ЕВ, Романчук СВ, Ротарь ОП, Трубачева ИА, Шляхто ЕВ, Бойцов СА* (2014) Распространенность тревоги и депрессии в различных регионах Российской Федерации и ее ассоциации с социально-демографическими факторами (по данным исследования Эссе-РФ). *Терапевт Арх* 12. [*Shal'nova SA, Evstifeeva SE, Deev AD, Artamonova GV, Gatagonova TM, Duplyakov DV, Efanov AYU, Zernakova YuV, Konradi AO, Libis RA, Minakov EV, Nedogoda SV, Oschepkova EV, Romanchyuk SV, Rotar' OP, Trubacheva IA, Schlyakhto EV, Boitsov SA* (2014) Prevalence of anxiety and depression in various regions of the Russian Federation and its association with socio-demographic factors (Essay-RF study). *Terapevt Arkh* 12. (In Russ)].

6. *Rong J, Cheng P, Li D, Wang X, Zhao D* (2024) Global, regional, and national temporal trends in prevalence for depressive disorders in older adults, 1990–2019: An age-period-cohort analysis based on the global burden of disease study 2019. *Ageing Res Rev* 100: 102443. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2024.102443>
7. *Javakhishvili M, Spatz Widom C* (2021) Childhood Maltreatment, Sleep Disturbances, and Anxiety and Depression: A Prospective Longitudinal Investigation. *J Appl Dev Psychol* 77: 101351. <https://doi.org/10.1016/j.appdev.2021.101351>
8. *Rice F, Riglin L, Lomax T, Souter E, Potter R, Smith DJ, Thapar AK, Thapar A* (2019) Adolescent and adult differences in major depression symptom profiles. *J Affect Disord* 243: 175–181. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2018.09.015>
9. *Sharma S, Chawla S, Kumar P, Ahmad R, Kumar Verma P* (2024) The chronic unpredictable mild stress (CUMS) paradigm: Bridging the gap in depression research from bench to bedside. *Brain Res* 1843: 149123. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2024.149123>
10. *Antoniuk S, Bijata M, Ponimaskin E, Włodarczyk J* (2019) Chronic unpredictable mild stress for modeling depression in rodents: Meta-analysis of model reliability. *Neurosci Biobehav Rev* 99: 101–116. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.12.002>
11. *Markov DD, Novosadova EV* (2022) Chronic Unpredictable Mild Stress Model of Depression: Possible Sources of Poor Reproducibility and Latent Variables. *Biology (Basel)* 11(11): 1621. <https://doi.org/10.3390/biology11111621>
12. *Cotella EM, Gómez AS, Lemen P, Chen C, Fernández G, Hansen C, Herman JP, Paglini MG* (2019) Long-term impact of chronic variable stress in adolescence versus adulthood. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 88: 303–310. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2018.08.003>
13. *Menard C, Hodes GE, Russo SJ* (2016) Pathogenesis of depression: Insights from human and rodent studies. *Neuroscience* 321: 138–162. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.05.053>
14. *Filatova EV, Shadrina MI, Slominsky PA* (2021) Major Depression: One Brain, One Disease, One Set of Intertwined Processes. *Cells* 10(6): 1283. <https://doi.org/10.3390/cells10061283>
15. *Patel D, Kas MJ, Chattarji S, Buwalda B* (2019) Rodent models of social stress and neuronal plasticity: Relevance to depressive-like disorders. *Behav Brain Res* 369: 111900. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.111900>
16. *Gencturk S, Unal G* (2024) Rodent tests of depression and anxiety: Construct validity and translational relevance. *Cogn Affect Behav Neurosci* 24(2): 191–224. <https://doi.org/10.3758/s13415-024-01171-2>
17. *Strekalova T, Liu Y, Kiselev D, Khairuddin S, Chiu JLY, Lam J, Chan YS, Pavlov D, Proshin A, Lesch KP, Anthony DC, Lim LW* (2022) Chronic mild stress paradigm as a rat model of depression: facts, artifacts, and future perspectives. *Psychopharmacology (Berl)* 239(3): 663–693. <https://doi.org/10.1007/s00213-021-05982-w>
18. *Salari M, Efiyekhar-Vaghefi SH, Asadi-Shekaari M, Esmaeilpour K, Solhjou S, Amiri M, Ahmadi-Zeidabadi M* (2023) Impact of ketamine administration on chronic unpredictable stress-induced rat model of depression during extremely low-frequency electromagnetic field exposure: Behavioral, histological and molecular study. *Brain Behav* 13(5): e2986. <https://doi.org/10.1002/brb3.2986>
19. *Deng Q, Parker E, Wu C, Zhu L, Liu TC, Duan R, Yang L* (2024) Repurposing Ketamine in the Therapy of Depression and Depression-Related Disorders: Recent Advances and Future Potential. *Aging Dis*. <https://doi.org/10.14336/AD.2024.0239>
20. *Ricon T, Toth E, Leshem M, Braun K, Richter-Levin G* (2012) Unpredictable chronic stress in juvenile or adult rats has opposite effects, respectively, promoting and impairing resilience. *Stress* 15(1): 11–20. <https://doi.org/10.3109/10253890.2011.572207>
21. *Kroemer NB, Opel N, Teckentrup V, Li M, Grotegerd D, Meinert S, Walter M* (2022) Functional connectivity of the nucleus accumbens and changes in appetite in patients with depression. *JAMA Psychiatry* 79(10): 993–1003. <https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2022.2414>
22. *Shin HS, Lee SH, Moon HJ, So YH, Jang HJ, Lee KH, Jung EM* (2024) Prolonged stress response induced by chronic stress and corticosterone exposure causes adult neurogenesis inhibition and astrocyte loss in mouse hippocampus. *Brain Res Bull* 208: 110903. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2024.02.007>

23. *Sahagun E, Ward LM, Kinzig KP* (2019) Attenuation of stress-induced weight loss with a ketogenic diet. *Physiol Behav* 212: 112654.  
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2019.112654>
24. *Milaneschi Y, Simmons WK, van Rossum EFC, Penninx BW* (2019) Depression and obesity: evidence of shared biological mechanisms. *Mol Psychiatry* 24(1): 18–33.  
<https://doi.org/10.1038/s41380-018-0017-5>
25. *He R, Zheng R, Zheng J* (2023) Causal Association Between Obesity, Circulating Glutamine Levels, and Depression: A Mendelian Randomization Study. *J Clin Endocrinol Metab* 108(6): 1432–1441.  
<https://doi.org/10.1210/clinem/dgac707>
26. *Simmons WK, Burrows K, Avery JA* (2020) Appetite changes reveal depression subgroups with distinct endocrine, metabolic, and immune states. *Mol Psychiatry* 25(7): 1457–1468.  
<https://doi.org/10.1038/s41380-018-0093-6>
27. *Murack M, Chandrasegaram R, Smith KB* (2021) Chronic sleep disruption induces depression-like behavior in adolescent male and female mice and sensitization of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in adolescent female mice. *Behav Brain Res* 399: 113001.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2020.113001>
28. *Gottlieb JF, Goel N, Chen S, Young MA* (2021) Meta-analysis of sleep deprivation in the acute treatment of bipolar depression. *Acta Psychiatr Scand* 143(4): 319–327.  
<https://doi.org/10.1111/acps.13255>
29. *Mikulska J, Juszczyk G, Gawrońska-Grzywacz M, Herbert M* (2021) HPA Axis in the Pathomechanism of Depression and Schizophrenia: New Therapeutic Strategies Based on Its Participation. *Brain Sci* 11(10): 1298.  
<https://doi.org/10.3390/brainsci11101298>
30. *Ulrich-Lai YM, Figueiredo HF, Ostrander MM, Choi DC, Engeland WC, Herman JP* (2006) Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291(5): E965–E973.  
<https://doi.org/10.1152/ajpendo.00070.2006>
31. *Rubin RT, Phillips JJ, Sadow TF, McCracken JT* (1995) Adrenal gland volume in major depression. Increase during the depressive episode and decrease with successful treatment. *Arch Gen Psychiatry* 52(3): 213–218.  
<https://doi.org/10.1001/archpsyc.1995.03950150045009>
32. *Harris BN, Saltzman W* (2013) Effects of aging on hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis activity and reactivity in virgin male and female California mice (*Peromyscus californicus*). *Gen Comp Endocrinol* 186: 41–49.  
<https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2013.02.010>
33. *Tezuka Y, Atsumi N, Blinder AR, Rege J, Giordano TJ, Rainey WE, Turcu AF* (2021) The age-dependent changes of the human adrenal cortical zones are not congruent. *J Clin Endocrinol Metab* 106(5): 1389–1397.  
<https://doi.org/10.1210/clinem/dgab007>
34. *Nikkheslat N, McLaughlin AP, Hastings C, Zajkowska Z, Nettis MA, Mariani N, Enache D, Lombardo G, Pointon L, Cowen PJ, Cavanagh J, Harrison NA, Bullmore ET, NIMA Consortium, Pariante CM, Mondelli V* (2020) Childhood trauma, HPA axis activity and antidepressant response in patients with depression. *Brain Behav Immun* 87: 229–237.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.11.024>
35. *Perry RE, Rincón-Cortés M, Braren SH, Brandes-Aitken AN, Opendak M, Pollonini G, Chopra D, Raver CC, Alberini CM, Blair C, Sullivan RM* (2019) Corticosterone administration targeting a hypo-reactive HPA axis rescues a socially-avoidant phenotype in scarcity-adversity reared rats. *Dev Cogn Neurosci* 40: 100716.  
<https://doi.org/10.1016/j.dcn.2019.100716>
36. *Hirtz R, Libuda L, Hinney A, Föcker M, Bühlmeier J, Holterhus PM, Kulle A, Kiewert C, Hauffa BP, Hebebrand J, Grasemann C* (2022) The adrenal steroid profile in adolescent depression: a valuable bio-readout?. *Transl Psychiatry* 12(1): 255.  
<https://doi.org/10.1038/s41398-022-01966-2>
37. *Zhang K, Wang F, Zhai M* (2023) Hyperactive neuronal autophagy depletes BDNF and impairs adult hippocampal neurogenesis in a corticosterone-induced mouse model of depression. *Theranostics* 13(3): 1059–1075.  
<https://doi.org/10.7150/thno.81067>
38. *Primo MJ, Fonseca-Rodrigues D, Almeida A, Teixeira PM, Pinto-Ribeiro F* (2023) Sucrose preference test: A systematic review of protocols for the assessment of anhedonia in rodents. *Eur Neuropsychopharmacol* 77: 80–92.  
<https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2023.08.496>

39. *Bonanni L, Gualtieri F, Lester D, Falcone G, Nardella A, Fiorillo A, Pompili M* (2019) Can anhedonia be considered a suicide risk factor? *Review Literat Medicina (Kaunas)* 55(8): 458. <https://doi.org/10.3390/medicina55080458>
40. *Markov DD* (2022) Sucrose Preference Test as a Measure of Anhedonic Behavior in a Chronic Unpredictable Mild Stress Model of Depression: Outstanding Issues. *Brain Sci* 12(10): 1287. <https://doi.org/10.3390/brainsci12101287>
41. *Rosso M, Wirz R, Loretan AV* (2022) Reliability of common mouse behavioural tests of anxiety: A systematic review and meta-analysis on the effects of anxiolytics. *Neurosci Biobehav Rev* 143: 104928. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104928>
42. *Zhang M, Wu W, Huang C, Cai T, Zhao N, Liu S, Yang S* (2022) Shuxie-1 decoction alleviated CUMS-induced liver injury via IL-6/JAK2/STAT3 signaling. *Front Pharm* 13: 848355. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.848355>
43. *Gupta GL, Sharma L, Sharma M* (2023) 18 $\beta$ -Glycyrrhetic acid ameliorates neuroinflammation linked depressive behavior instigated by chronic unpredictable mild stress via triggering BDNF/TrkB signaling pathway in rats. *Neurochem Res* 48(2): 551–569. <https://doi.org/10.1007/s11064-022-03779-7>
44. *Li HZ, Liu KG, Zeng NX, Wu XF, Lu WJ, Xu HF, Yan C, Wu LL* (2022) Luteolin enhances choroid plexus 5-MTHF brain transport to promote hippocampal neurogenesis in LOD rats. *Front Pharm* 13: 826568. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.826568>
45. *Brandwein C, Leenaars CHC, Becker L, Pfeiffer N, Iorgu AM, Hahn M, Vairani GA, Lewejohann L, Bleich A, Mallien AS, Gass P* (2023) A systematic mapping review of the evolution of the rat Forced Swim Test: Protocols and outcome parameters. *Pharmacol Res* 196: 106917. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2023.106917>
46. *Al-Ramadhan FR, Abulmeaty MMA, Alquraishi M, Razak S, Alhussain MH* (2023) Effect of vitamin D3 on depressive behaviors of rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *Biomedicines* 11(8): 2112. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11082112>
47. *Du X, Yin M, Yuan L, Zhang G, Fan Y, Li Z, Yuan N, Lv X, Zhao X, Zou S, Deng W, Kosten TR, Zhang XY* (2020) Reduction of depression-like behavior in rat model induced by ShRNA targeting norepinephrine transporter in locus coeruleus. *Transl Psychiatry* 10(1): 130. <https://doi.org/10.1038/s41398-020-0808-8>
48. *Li H, Wang P, Zhou Y, Zhao F, Gao X, Wu C, Wu T, Jiang L, Zhang D* (2022) Correlation between intestinal microbial imbalance and 5-HT metabolism, immune inflammation in chronic unpredictable mild stress male rats. *Genes Brain Behav* 21(6): e12806. <https://doi.org/10.1111/gbb.12806>

## **The Influence of the Duration of Chronic Unpredictable Mild Stress on the Effectiveness of Modeling Depressive-Like State in Rats of Different Ages**

**O. V. Nadei<sup>a,\*</sup>, E. S. Prokopenko<sup>a,b</sup>, and N. I. Agalakova<sup>a</sup>**

*<sup>a</sup>Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Saint-Petersburg, Russia*

*<sup>b</sup>Saint Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia*

*\*e-mail: olganadej@gmail.com*

The aim of the study was to determine the optimal duration of chronic unpredictable mild stress (CUMS) exposure for the induction of depressive-like state (DLS) in rats of different ages. Male Wistar rats aged 6 weeks (young), 10 months (adult), and 20 months (old) were used in the experiment. The rats were divided into control and experimental groups that underwent 4-week and 7-week CUMS exposure, respectively. DLS was induced using the CUMS protocol, for which the animals were subjected to alternating short and long-term stress stimuli for 4 or 7 weeks. The hedonic state of the rats was assessed by their preferences for sucrose, and DLS was evaluated using open field and forced swim tests, as well as by corticosterone levels in blood plasma. In rats from all age groups, the reduction in sucrose intake was observed beginning at 4 weeks following exposure to chronic stress. However, all individuals in the CUMS groups were classified as having anhedonia-like symptoms after 7 weeks of stress exposure only. Long-term exposure to chronic stress resulted in decrease in exploratory activity and an increase in anxiety levels in animals of all ages during the open field test. In the forced swimming test, the indications of behavioral despair, including the decline in latency to the first episode of immobility and an increase in total duration of immobility, were also more pronounced in rats exposed to stress for 7 weeks. Additionally, young rats that underwent CUMS protocol demonstrated more prominent behavioral abnormalities compared to adult and older individuals. 7-weeks of CUMS exposure led to significant increase in corticosterone levels, indicative of DLS, in all rats. Therefore, the findings from all tests suggest that a longer CUMS protocol is required for the development of depression-like behavior in male Wistar rats, and younger individuals are more vulnerable to the effects of chronic stress.

*Keywords:* rats, depressive-like state, chronic unpredictable mild stress, anhedonia, open field test, forced swim test, corticosterone