
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ХРОНИЧЕСКОГО НЕДОСЫПАНИЯ
И ВЫСОКОЖИРОВОЙ ДИЕТЫ РАЗДЕЛЬНО И СОВМЕСТНО
НА МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И НЕЙРОПОВЕДЕНЧЕСКИЕ
ФУНКЦИИ У КРЫС**

© 2025 г. М. В. Чернышев^{1, *}, М. Б. Пазин¹, Д. В. Белан¹, А. О. Шпаков¹,
К. В. Деркач¹, И. В. Екимова¹

*¹Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН,
Санкт-Петербург, Россия
E-mail: netmisha@mail.ru

Поступила в редакцию 20.05.2025 г.

После доработки 24.06.2025 г.

Принята к публикации 07.07.2025 г.

Среди негативных последствий хронического недосыпания важное место занимают ожирение и ассоциированные с ним метаболические и нейроповеденческие расстройства. Хроническое недосыпание приводит к повышению аппетита, предпочтению высококалорийной пищи, что провоцирует риск развития ожирения. Причинно-следственные связи между короткой продолжительностью сна и патофизиологией ожирения, а также последствия сочетанного воздействия этих факторов на организм остаются малоизученными. Цель работы состояла в сравнительном исследовании влияния ограничения сна (ОС) и ожирения, индуцированного высокожировой диетой (ВЖД), в отдельности и совместно на метаболические показатели и нейроповеденческие функции у крыс. В работе использована модель хронического ОС (3 ч депривации сна на качающейся платформе и 1 ч покоя в течение 5 дней) и ВЖД (8 недель) у самцов крыс популяции Вистар. Контрольные животные получали стандартный сухой корм. Установлено, что ОС приводит к приросту массы тела и жировой ткани и нарушению толерантности к глюкозе, причем при сочетании ОС и ВЖД спектр метаболических и гормональных нарушений расширяется, в том числе снижается инсулиновая чувствительность, на что указывает повышение уровня инсулина и индекса инсулиновой резистентности. Нами впервые продемонстрировано, что при сочетании ОС с ВЖД также нарушаются нейрокогнитивные показатели, в частности рабочая память, о чем свидетельствует уменьшение спонтанного чередования в тесте Y-образный лабиринт, в то время как в группах только с ОС или ВЖД эти показатели не менялись. Выяснено, что нарушение рабочей памяти в группе ОС+ВЖД может быть связано с дисрегуляцией дофаминергической системы в префронтальной коре головного мозга. Сочетанное воздействие ОС и ВЖД может рассматриваться как значимый фактор повышения рисков для развития метаболических расстройств и когнитивного дефицита.

Ключевые слова: хроническое ограничение сна, высокожировая диета, метаболические показатели, рабочая память, мезокортикальная система, крыса

DOI: 10.7868/S2658655X25090029

ВВЕДЕНИЕ

Снижение продолжительности и качества сна является серьезной медико-социальной проблемой современного постиндустриального общества и одной из первопричин метаболических, сердечно-сосудистых и психоневрологических заболеваний. Это во многом обусловлено функциональными нарушениями в нейрональных сетях и нарушениями центральной регуляции пищевого поведения, периферического метаболизма, функций эндокринной и сердечно-сосудистой систем [1, 2]. Распространенность хронического недосыпания среди взрослого населения в России неуклонно растет. Согласно данным всероссийского опроса НАФИ, посвященного качеству сна (www.nafi.ru), работающие россияне в среднем недосыпают (сон менее 6 ч в сутки) четыре дня в неделю, что негативно сказывается на здоровье, производительности труда и качестве жизни.

Среди негативных последствий хронического недосыпания важное место занимают ожирение и ассоциированные с ним метаболические расстройства – сахарный диабет 2-го типа и метаболический синдром, на что указывают многочисленные эпидемиологические исследования [3–5]. Необходимо отметить, что ожирение сейчас рассматривают как глобальную неинфекционную эпидемию [6]. Так, в России из числа лиц трудоспособного населения около 40 миллионов человек страдают различными формами ожирения [7]. Хроническое недосыпание нарушает баланс факторов, регулирующих пищевое поведение: снижает уровни анорексигенного фактора лептина и повышает содержание орексигенного грелина. Вследствие дисрегуляции работы центра насыщения в условиях депривации сна повышается аппетит с предпочтением жирной и сладкой пищи [3, 4]. В дальнейшем происходит накопление жировой ткани, особенно висцерального жира, развиваются резистентность к инсулину и лептину, дислипидемия, нарушается толерантность к глюкозе, отмечается нарушение функциональной активности гормональных систем, что провоцирует широкий спектр метаболических и нейродегенеративных расстройств [4, 8, 9]. Кроме того, ожирение также может стать причиной нарушений сна (низкое качество сна, инсомния, обструктивное апноэ во сне) [10, 11], что приводит к порочному кругу и усугубляет патофизиологию ожирения. Однако нет достаточных доказательств, подтверждающих неблагоприятное воздействие хронического недосыпания на патофизиологию ожирения и обусловленные им гормональные и метаболические изменения [12]. Расшифровка возможных механизмов влияния хронического недосыпания на патофизиологию ожирения является одной из острейших проблем современной медицины и физиологии. Учитывая тесную взаимосвязь между хроническим недосыпанием и метаболическими расстройствами, актуальной задачей является выяснение вопроса о том, как депривация сна влияет на метаболические и гормональные показатели в условиях несбалансированной высококалорийной диеты.

Как хроническое недосыпание, так и ожирение способствуют развитию структурно-функциональных нарушений в нейрональных сетях мозга. Данные литературы показывают, что ожирение связано с нарушениями пространственной и гиппокамповозависимой памяти [13–15], которые обусловлены измененной структурой, а также функциональной активностью гиппокампа и префронтальной коры, ответственных за контроль когнитивных функций [13, 16, 17]. Определенный вклад в развитие когнитивного дефицита вносят и дисфункции дофамин (ДА)-ергического мезокортикального пути, играющего важную роль в модуляции активности сигналов, генерируемых медиальной префронтальной корой и вовлеченных в контроль рабочей памяти и поведенческих функций [18–20]. Наряду с этим гиппокамп и префронтальная кора ответственны за реализацию эмоционального поведения [21–23]. В ряде исследований было показано негативное влияние высокожировой диеты (ВЖД) на показатели эмоционального поведения. Так, у людей и животных, получавших такую диету, проявлялись признаки

тревожно-подобного поведения и развитие депрессии [24–27]. Необходимо также отметить, что интегрированные нейрональные пути ДА-ергической мезокортикальной системы и префронтальной коры вовлечены в механизмы эмоционального и мотивационного контроля потребления пищи [23, 28]. Тем самым структурно-функциональные изменения в этих путях могут способствовать развитию гиперфагии, а также ожирения и других метаболических расстройств.

Многочисленные клинические и экспериментальные исследования, в том числе с использованием животных моделей депривации сна, демонстрируют негативное влияние хронического недосыпания на память и эмоциональное поведение, причем наиболее уязвимой к недостатку сна является пространственная рабочая память с ее критической зависимостью от префронтальной коры [20, 29, 30]. Таким образом, прослеживается влияние эффектов хронического недосыпания и ожирения на когнитивные функции и поведенческие реакции, в основе которого могут лежать общие патологические механизмы, которые остаются малоизученными. Остается до сих пор невыясненным, может ли негативное влияние депривации сна на функции ЦНС усиливаться на фоне потребления ВЖД.

В соответствии с вышесказанным целью работы было сравнительное исследование влияния хронического недосыпания и ВЖД-индуцированного ожирения в отдельности и совместно на метаболические и гормональные показатели, пространственную рабочую память, тревожно-подобное поведение и структурную целостность ДА-ергического мезокортикального пути. Это является базисом для понимания того, способствует ли хроническое недосыпание возникновению и усугублению возможных негативных эффектов ВЖД на метаболический и гормональный статус, а также на нейрокогнитивные функции.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Животные

Эксперименты проведены на самцах крыс Wistar (возраст 6 месяцев, масса тела 250–300 г). До начала исследования животные содержались в виварии Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова. На время эксперимента крыс перемещали в экспериментальную комнату и содержали в одиночных клетках при световом режиме 12 : 12 ч (10:00–22:00 – свет включен) и температуре воздуха 23 ± 1 °C. Доступ к воде и пище был неограниченным.

Создание модели хронического недосыпания

Для создания модели хронического недосыпания была применена ранее разработанная в лаборатории методика полифазного режима ограничения сна – 3 ч депривации сна и 1 ч покоя в течение 5 суток, непрерывно, с применением качающейся платформы [31]. Клетка с животным помещалась на платформу орбитального шейкера S-3.02L.A20 (“ELMI”, Латвия), которая вращалась в периоды депривации сна с частотой 165 оборотов в минуту, в периоды покоя вращение шейкера автоматически останавливалось. Ограничение сна (ОС; sleep restriction, SR) в таком режиме позволяло сократить сон у крыс до 50% от нормы, что достаточно для имитации хронического недосыпания [31]. Крыс контрольной группы помещали в одиночные клетки с включенным шейкером. Для минимизации острого стрессорного воздействия до начала эксперимента животных опытной и контрольной групп помещали на качающуюся платформу на 20 мин в светлую фазу суток в течение двух дней. Период адаптации к экспериментальной комнате составлял 7 дней (рис. 1).

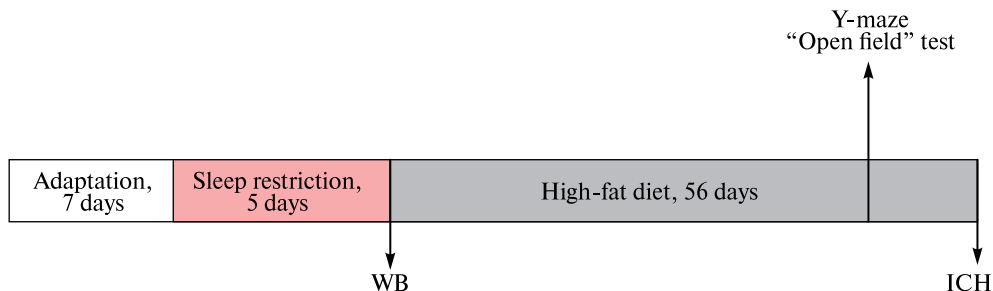


Рис. 1. Схема эксперимента. Sleep restriction – ограничение сна. High-fat diet – высокожировая диета. WB – взятие биоматериала мозга для вестерн-блоттинга, ICH – immunohistochemistry, взятие биоматериала мозга для иммуногистохимического исследования.

Высокожировая диета и интраперитонеальный глюкозотолерантный тест

После окончания процедуры депривации сна крыс переводили на ВЖД, которая включала 8 г/день пасты из 52.4% свиного сала, 41.7% обезжиренного творога, 5% печеночного паштета, 0.5% L-метионина, 0.2% пекарских дрожжей и 0.2% NaCl, со свободным доступом к стандартному корму (СК; standard diet, SD) и питьевой воде. Крысы контрольной группы получали только СК. Через 8 недель после перевода на ВЖД у животных оценивали толерантность к глюкозе в интраперитонеальном глюкозотолерантном тесте (ИГТТ). Для этого крысам однократно внутривентрально вводили глюкозу в дозе 2 г/кг, как описано ранее [32]. Уровень глюкозы в крови, полученной из хвостовой вены, измеряли натошак (нулевая точка) и через 15, 30, 60, 120 и 180 мин после введения раствора глюкозы с помощью тест-полосок One Touch Ultra (США). Нарушение толерантности к глюкозе оценивали по показателю AUC_{0-120} , представляющему собой интегрированную площадь под кривой “концентрация глюкозы, ммоль/л – время, мин”, как описано ранее [32]. Уровень инсулина оценивали до и через 60 мин после нагрузки глюкозой. Для этого использовали набор “Rat Insulin ELISA kit” (“Merckodia AB”, Швеция). Кровь брали из хвостовой вены под местной анестезией (2%-ный раствор лидокаина, 2–4 мг/кг). ИГТТ проводили не менее чем за неделю до поведенческих экспериментов, чтобы исключить возможное влияние нагрузки глюкозой на изучаемые параметры.

Исследование показателей когнитивных функций и эмоционального поведения

Через 9 недель после перевода крыс на ВЖД у них оценивали когнитивные функции и эмоциональное поведение. Исследование поведения животных состояло из двух независимых серий экспериментов на основании использования различных типов питания: 1) крысы с СК, 2) крысы с ВЖД. В каждой серии сравнивали две группы – крысы, подвергшиеся ОС, и крысы без ОС. Таким образом, были сформированы 4 независимые группы: 1) контрольные животные, получавшие СК (группа СК, $n = 9$), 2) крысы, подвергаемые ОС и получавшие СК (группа ОС+СК, $n = 7$), 3) крысы, получавшие ВЖД (группа ВЖД, $n = 9$), 4) крысы, подвергаемые ОС и получавшие ВЖД (группа ОС+ВЖД, $n = 7$). Для оценки метаболических и гормональных показателей случайным образом отбирали по 6 животных из каждой группы.

Тест спонтанное чередование в Y-образном лабиринте использовался для оценки пространственной рабочей памяти у крыс. Установка представляла собой лабиринт с тремя равнозначными рукавами $50 \times 16 \times 31$ см. Применялась парадигма исследования спонтанного чередования рукавов лабиринта. Тест начинался с помещения

животного в один из трех рукавов лабиринта, после чего в течение 10 мин регистрировалось количество и последовательность заходов крысы в рукава лабиринта. На основании этого рассчитывали процентное отношение правильных триад (чередований трех разных рукавов лабиринта) как показатель рабочей памяти. Для окончательного расчета использовалась следующая формула [33]:

$$\text{спонтанное чередование, \%} = \frac{\text{число правильных триад}}{\text{общее число входов в рукава} - 2} \times 100\%.$$

Тест открытое поле использовался для оценки уровня локомоторного и тревожно-подобного поведения у крыс. Установка (“НПК Открытая Наука”, Москва) представляла собой пластиковую конструкцию, состоящую из круглой арены диаметром 97 см, ограниченной по периметру стенкой высотой 42 см. Область арены была поделена на 2 зоны – центральную (аверсивную) диаметром 63 см и периферическую (преферентную) – оставшаяся площадь арены до стенки. Тест начинали с помещения животного в центр арены, после чего производилась 5-минутная видеорегистрация с последующим видеотрекингом по программе EthoVision® XT 11.5 (“Noldus Inc.”, США). Подсчитывались пройденная дистанция, время, скорость и число появлений животного в заданной зоне, перемещения животного в заданном пространстве. Локомоторную активность оценивали по общей пройденной дистанции в обеих зонах. О тревожно-подобном поведении судили по числу входов в центральную зону и времени пребывания в ней.

Подготовка образцов головного мозга

На следующий день после окончания поведенческих тестов крыс наркотизировали (Zoletil®; внутримышечно, 70 мг/кг) и декапитировали, извлекая головной мозг из черепной коробки для иммуногистохимического исследования. Головной мозг фиксировали в 4%-ном параформальдегиде с последующим переносом в 25%-ный раствор сахарозы, замораживали в 2-метилбутане при температуре –45 °С и в дальнейшем хранили в морозильной камере при температуре –80 °С.

Иммуногистохимическое исследование

Для подсчета количества выживших ДА-ергических нейронов вентральной тегментальной области (ВТО) среднего мозга и их аксональных проекций в префронтальную кору использовали биотин-стрептавидиновый метод окраски. Серии фронтальных срезов ВТО (10 мкм) и префронтальной коры (20 мкм) были подготовлены с помощью криостата Leica CM-1520 (“Leica Biosystems”, Германия) в соответствии с атласом головного мозга крысы [34]. 10–12 чередующихся серий срезов, разнесенных на 50 мкм между друг другом, помещали на предметные стекла SuperFrost Plus Adhesion (“EpreDia”, Германия) и хранили в морозильной камере при температуре –20 °С. После стандартных предварительных процедур, описанных ранее [35], срезы инкубировали в течение суток с антителами против тирозингидроксилазы (ТГ) (1 : 900; “Abcam”, Великобритания) при температуре 22–24 °С. На следующие сутки срезы последовательно инкубировали со вторичными биотинилированными антителами козы против кролика (1 : 400, “Vector Laboratories”, США) и стрептавидинпероксидазой (1 : 250; “Vector Laboratories”, США). Реакцию визуализировали с использованием 3,3-диаминобензидина (“Sigma-Aldrich”, США) в качестве хромогена.

Изображения срезов получали на микроскопе Zeiss Axio Imager A1 (“Carl Zeiss”, Германия) со встроенной камерой и программным обеспечением ZEN Blue. Морфологический анализ количества ТГ-иммунопозитивных нейронов ВТО и их аксонов в префронтальной коре проводили с использованием ~10 срезов от каждого животного,

разнесенных на 50 мкм. Количество клеток и аксонов подсчитывали для стандартного участка ткани, оцениваемого с использованием камеры светового микроскопа с объективом $\times 20$ для срезов префронтальной коры (697×523 мкм) и объективом $\times 10$ для препаратов ВТО (1389×1040 мкм).

Анализ количества клеток проводили вручную с использованием программы PhotoM 1.21 (http://www.t_lambda.chat.ru/). Анализ количества ТГ-иммунопозитивных аксонов в префронтальной коре проводили в программе ImageJ 1.8 (NIH, США), которая позволяет автоматически (под контролем экспериментатора) выделить аксоны, содержащие ТГ, и подсчитать их количество и площадь на микрофотографии. Результаты выражали как среднее количество положительно окрашенных клеток структуры $\pm$ ошибка среднего.

Статистический анализ данных

Статистический анализ данных (метаболические и гормональные показатели) проводили в программе SPSS Statistics 22 (“IBM Corp.”, США) с применением критерия Колмогорова–Смирнова для оценки нормальности распределения и критерия Ливиня для проверки равенства дисперсий. Множественные сравнения между группами проводили с использованием двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA с последующим post-hoc анализом с помощью критерия Тьюки. Для оценки влияния ограничения сна на метаболические показатели крыс, находящихся на стандартном рационе или на ВЖД, проводили попарное сравнение между группами СК и ОС+СК или ВЖД и ОС+ВЖД с помощью *t*-критерия Стьюдента. Статистический анализ данных по поведенческим и морфологическим показателям проводили с помощью программы GraphPad Prism 8 (США). Все данные проверяли на нормальность распределения тестом Шапиро–Уилка и критерием Колмогорова–Смирнова и на равенство дисперсий F-тестом Фишера. Сравнения между группами проводили с использованием двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA с последующим post-hoc анализом с помощью критерия Тьюки. Межгрупповые различия считались статистически значимыми при $p \leq 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование метаболических показателей

Двухфакторный дисперсионный анализ продемонстрировал влияние ВЖД (фактор “Диета”) на все изученные метаболические и гормональные показатели – на массу тела и жировой ткани, долю жира, показатель AUC_{0-120} , характеризующий толерантность к глюкозе, а также на уровни инсулина до и после глюкозной нагрузки в ИГТТ и на индекс ИР (табл. 1, 2). В то же время ОС (фактор “Сон”) влиял только на массу тела и жира и на показатель AUC_{0-120} . При этом значимого взаимодействия факторов “Диета” и “Сон” выявлено не было (табл. 1, 2). Основываясь на этом, далее проводили апостериорный анализ по Тьюки, а также осуществляли попарное сравнение (*t*-тест) между группами СК и ОС+СК и между группами ВЖД и ОС+ВЖД с целью оценки влияния отставленного эпизода ограничения сна на метаболические и гормональные показатели у крыс, находящихся на нормальной (СК) или обогащенной насыщенными жирами (ВЖД) диете.

Крысы, содержащиеся на СК и подвергнутые ОС, при сравнении с контрольной группой, получавшей СК, имели повышенную массу тела и массу жировой ткани, а также повышенную долю жира. Крысы, которые получали ВЖД, отличались от контрольной группы только по массе и доле жировой ткани, в то время как крысы группы ОС+ВЖД, как и группа ОС+СК, характеризовались повышением массы тела

и жировой ткани и доли жира в организме, причем последний показатель был значимо выше такового в группе ВЖД (табл. 1). Эти данные указывают на то, что непродолжительная ВЖД (8 недель) оказывает на массу тела и жировой ткани менее выраженное влияние, чем ОС. В то же время сочетание факторов ОС и ВЖД приводит к более выраженным изменениям этих показателей, чем ВЖД в отсутствие ОС.

Таблица 1. Масса тела и жировой ткани и доля жировой ткани у крыс с ограничением сна и потреблением высокожировой диеты раздельно или совместно

	Масса тела, г	Масса жира, г	Доля жира, %
F Диета	$F_{(1,20)} = 7.43$ $p = 0.013$	$F_{(1,20)} = 19.43$ $p = 0.0001$	$F_{(1,20)} = 25.10$ $p = 0.0001$
F Сон	$F_{(1,20)} = 7.17$ $p = 0.014$	$F_{(1,20)} = 4.99$ $p = 0.037$	$F_{(1,20)} = 3.38$ $p = 0.081$
F Взаимодействие	$F_{(1,20)} = 0.16$ $p = 0.696$	$F_{(1,20)} = 0.58$ $p = 0.454$	$F_{(1,20)} = 1.31$ $p = 0.265$
СК	413 ± 12	11.2 ± 0.7	2.7 ± 0.1
ОС+СК	$455 \pm 10^{a,*}$	$14.7 \pm 1.1^{a,*}$	$3.2 \pm 0.2^{a,*}$
ВЖД	455 ± 20	17.2 ± 1.2^a	3.8 ± 0.1^a
ОС+ВЖД	487 ± 9^a	18.9 ± 1.5^a	$3.9 \pm 0.3^{a,b}$

Примечания. Здесь и в табл. 2–3: СК – контрольные животные, получавшие стандартный корм (СК); ОС+СК – крысы с ограничением сна, получавшие СК; ВЖД – животные, получавшие ВЖД; ОС+ВЖД – крысы с ограничением сна и последующим содержанием на ВЖД.

F – критерий Фишера, двухфакторный ANOVA. ^a – различия между СК и остальными группами и ^b – различия между ОС+СК и остальными группами статистически значимы при $p < 0.05$ (при множественном сравнении, апостериорный тест Тьюки). * – различия между группами СК и ОС+СК статистически значимы при $p < 0.05$ (при попарном сравнении, *t*-критерий Стьюдента). Данные представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего ($M \pm SEM$), число животных в каждой группе $n = 6$.

Толерантность к глюкозе, оцениваемая по показателю AUC_{0-120} , нарушалась в обеих группах с ОС, в то время как в группе ВЖД значимо от контроля она не отличалась (табл. 2). В группе ОС+ВЖД также отмечали повышение индекса ИР, иллюстрирующего снижение чувствительности тканей к инсулину, что согласуется с нарушением толерантности к глюкозе у животных этой группы. В группе ВЖД отмечали тенденцию к повышению индекса ИР, но различия с контролем не были значимыми (табл. 2). Необходимо отметить, что базовый (натощак) и глюкозостимулированный уровни инсулина в крови и индекс ИР у крыс группы ОС+ВЖД были значимо выше, чем в группе ОС+СК. Это указывает на то, что инсулиновая чувствительность у крыс с ОС нарушается только на фоне ВЖД, и это выражается умеренной гиперинсулинемией и развитием признаков ИР (табл. 2). Тем самым ОС не только нарушает толерантность к глюкозе, но при сочетании с ВЖД приводит к нарушению инсулинового сигналинга в тканях-мишенях.

Таблица 2. Значение AUC_{0-120} как показатель толерантности к глюкозе, уровни инсулина в крови до и через 60 мин после глюкозной нагрузки и индекс инсулинорезистентности у крыс с ограничением сна и потреблением высокожировой диеты отдельно или совместно

Группа	AUC_{0-120} , отн. ед.	Инсулин [0], нг/мл	Инсулин [60], нг/мл	Индекс ИР [0], отн. ед.
F Диета	$F_{(1,20)} = 7.64$ $p = 0.012$	$F_{(1,20)} = 13.21$ $p = 0.002$	$F_{(1,20)} = 12.92$ $p = 0.002$	$F_{(1,20)} = 14.20$ $p = 0.001$
F Сон	$F_{(1,20)} = 7.94$ $p = 0.011$	$F_{(1,20)} = 0.004$ $p = 0.953$	$F_{(1,20)} = 0.198$ $p = 0.661$	$F_{(1,20)} = 0.101$ $p = 0.754$
F Взаимодействие	$F_{(1,20)} = 0.334$ $p = 0.570$	$F_{(1,20)} = 0.86$ $p = 0.365$	$F_{(1,20)} = 2.95$ $p = 0.101$	$F_{(1,20)} = 0.836$ $p = 0.371$
СК	1172 ± 47	0.76 ± 0.07	1.57 ± 0.15	3.84 ± 0.26
ОС+СК	$1318 \pm 38^*$	0.67 ± 0.14	1.21 ± 0.21	3.52 ± 0.87
ВЖД	1316 ± 28	1.03 ± 0.07	2.09 ± 0.28	5.37 ± 0.34
ОС+ВЖД	1412 ± 55^a	1.11 ± 0.10^b	$2.70 \pm 0.41^{a,b}$	$6.03 \pm 0.46^{a,b}$

Примечания. Значение AUC_{0-120} рассчитывали как интегрированную площадь под глюкозными кривыми “концентрация глюкозы, ммоль/л – время, мин” при проведении ИГТТ в течение 120 мин после глюкозной нагрузки. Индекс ИР рассчитывали как произведение концентраций глюкозы и инсулина натощак до глюкозной нагрузки (нулевая точка). ^a – различия между СК и остальными группами и ^b – различия между ОС+СК и остальными группами статистически значимы при $p < 0.05$ (при множественном сравнении, апостериорный тест Тьюки). * – различия между группами СК и ОС+СК статистически значимы при $p < 0.05$ (при попарном сравнении, t -критерий Стьюдента). Данные представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего ($M \pm SEM$), число животных в каждой группе $n = 6$.

Исследование пространственной рабочей памяти и эмоционального поведения

Для выяснения того, способствует ли хроническое недосыпание возникновению или усугублению возможных негативных эффектов ВЖД на когнитивные функции и эмоциональное поведение, была оценена пространственная рабочая память в тесте “Y-образный лабиринт” и эмоциональное поведение в тесте “открытое поле”.

Применение двухфакторного дисперсионного анализа позволило установить отсутствие отдельного влияния ОС (фактор “Сон”) и ВЖД (фактор “Диета”) на все исследуемые поведенческие показатели крыс в используемых тестах. Однако было выявлено взаимодействие этих факторов на процент спонтанных чередований в тесте “Y-образный лабиринт” (рис. 2, $F(1, 28) = 5.6531$, $p = 0.025$). Дальнейший апостериорный анализ с помощью критерия Тьюки позволил определить, что в группе ОС+ВЖД наблюдалось снижение значения указанного показателя по сравнению с группой ВЖД ($p = 0.038$), что указывает на ухудшение пространственной рабочей памяти в условиях действия обоих факторов. Иные попарные межгрупповые сравнения не показали статистически значимых различий в выполнении теста спонтанных чередований, т. е. у крыс, получавших ВЖД без ОС, подобного эффекта не отмечалось, и наоборот.

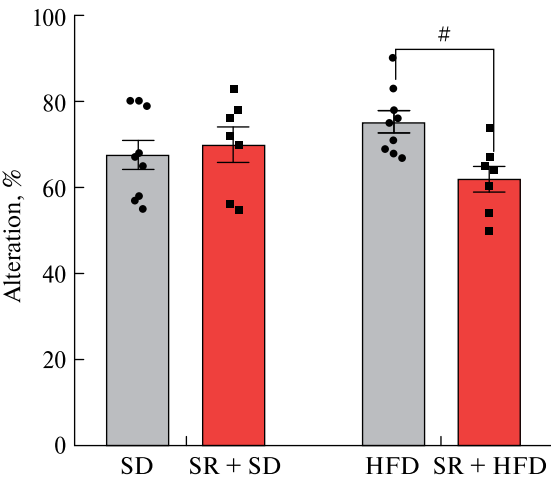


Рис. 2. Изменение пространственной рабочей памяти после 5-дневного ограничения сна у крыс, получавших стандартный корм или высокожировую диету в течение 8 недель после депривации сна. SD – контрольные животные, получавшие стандартный корм (СК) ($n = 9$), SR+SD – крысы с ограничением сна, получавшие СК ($n = 7$), HFD – животные, получавшие высокожировую диету (ВЖД) ($n = 9$), SR+HFD – крысы с ограничением сна и ВЖД ($n = 6$). Данные представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего ($M \pm SEM$), точками обозначены индивидуальные значения для каждой крысы. Двухфакторный анализ ANOVA с последующим post-hoc анализом с помощью критерия Тьюки. Различия между группами ОС+ВЖД (SR+HFD) по сравнению с ВЖД (HFD) статистически значимы # при $p < 0.05$. Фактор диета $F(1, 27) = 0.2834$, $p = 0.5988$; фактор сон $F(1, 27) = 3.11$, $p < 0.0891$; взаимодействие $F(1, 27) = 6.062$, $p = 0.0205$.

В тесте “открытое поле” не было выявлено значимых эффектов ОС и ВЖД, в том числе в сочетании друг с другом, на показатели двигательной активности и тревожно-подобного поведения. Оценивали следующие параметры: пройденная дистанция, скорость, число входов и время пребывания в центральной зоне арены (табл. 3).

Таблица 3. Изменение показателей двигательной активности и тревожно-подобного поведения после 5-дневного ограничения сна у крыс, получавших стандартный корм или высокожировую диету в течение 8 недель после депривации сна

Параметры поведения	Группы крыс			
	СК <i>n</i> = 9	ОС+СК <i>n</i> = 7	ВЖД <i>n</i> = 9	ОС+ВЖД <i>n</i> = 7
Пройденная дистанция, см Сон – $F_{(1,28)} = 0.05$, $p = 0.82$ Диета – $F_{(1,28)} = 3.26$, $p = 0.08$ Взаимодействие – $F_{(1,28)} = 0.43$, $p = 0.52$	1108 $\pm$ 80	1011 $\pm$ 8	1233 $\pm$ 95	1280 $\pm$ 133
Скорость, см/с Сон – $F_{(1,28)} = 0.06$, $p = 0.80$ Диета – $F_{(1,28)} = 2.10$, $p = 0.16$ Взаимодействие – $F_{(1,28)} = 0.88$, $p = 0.36$	3.88 $\pm$ 0.42	3.39 $\pm$ 0.45	4.09 $\pm$ 0.33	4.37 $\pm$ 0.46

Таблица 3. Окончание

Параметры поведения	Группы крыс			
	СК <i>n</i> = 9	ОС+СК <i>n</i> = 7	ВЖД <i>n</i> = 9	ОС+ВЖД <i>n</i> = 7
Число входов в ЦЗ Сон – $F_{(1,28)} = 0.67, p = 0.42$ Диета – $F_{(1,28)} = 0.51, p = 0.48$ Взаимодействие – $F_{(1,28)} = 0.51, p = 0.48$	2.78 ± 0.78	2.85 ± 0.73	2.78 ± 0.86	4.00 ± 0.69
Время пребывания в ЦЗ, с Сон – $F_{(1,28)} = 0.00, p = 0.99$ Диета – $F_{(1,28)} = 0.00, p = 0.96$ Взаимодействие – $F_{(1,28)} = 1.74, p = 0.20$	24.6 ± 9.1	15.7 ± 6.1	15.3 ± 4.5	24.0 ± 3.7

Примечания. Данные представлены как среднее ± ошибка среднего ($M \pm SEM$). ЦЗ – центральная зона, СК – контрольные животные, получавшие стандартный корм ($n = 9$), ОС+СК – крысы с ограничением сна (ОС), получавшие СК ($n = 7$), ВЖД – животные, получавшие высокожировую диету ($n = 9$), ОС+ВЖД – крысы с ограничением сна и ВЖД ($n = 7$).

F – критерий Фишера, двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA. Статистически значимое влияние факторов и их взаимодействия отсутствуют – $p > 0.05$.

Патоморфологический анализ признаков нейродегенерации в дофаминергическом мезокортикальном пути

Для изучения причин нарушения рабочей памяти при сочетанном действии ОС+ВЖД представлялось важным оценить целостность ДА-ергического мезокортикального пути, вовлеченного в механизмы формирования пространственной рабочей памяти [18]. Морфологический анализ признаков нейродегенерации в мезокортикальной системе выявил гибель ДА-ергических нейронов у крыс групп ОС+СК и ОС+ВЖД. Об этом свидетельствовало уменьшение количества ТГ-иммунопозитивных нейронов в ВТО среднего мозга на 17% ($p < 0.05$) у крыс с ОС, получавших СК, по сравнению с контрольной группой СК и на 24% ($p < 0.001$) у крыс с ОС, получавших ВЖД, по сравнению с группой, находящейся на ВЖД (рис. 3). Достоверных различий в количестве ТГ-иммунопозитивных нейронов в ВТО между группами крыс ОС+СК и ОС+ВЖД выявлено не было. Отмечено, что ВЖД без ОС не приводит к потере ДА-ергических нейронов в ВТО: количество ТГ-иммунопозитивных нейронов в ВТО в группе ВЖД по сравнению с группой СК значимо не менялось (рис. 3).

Дальнейший морфологический анализ показал, что гибель ДА-ергических нейронов в ВТО после ОС в условиях разных диет была сопряжена с гибелью ДА-ергических аксонов в префронтальной коре. Об этом свидетельствовало уменьшение количества ДА-ергических аксонов на 11% ($p < 0.05$) в группе ОС+СК по сравнению с контрольной группой, получавшей стандартный корм, и на 14% ($p < 0.01$) в группе ОС+ВЖД по сравнению с группой ВЖД без депривации сна (рис. 4). Различий между группами ОС+СК и ОС+ВЖД не обнаружено. ВЖД не приводила к потере ДА-ергических аксонов в префронтальной коре.

Совокупность полученных данных позволяет полагать, что развитие нейродегенерации в ДА-ергической мезокортикальной системе в группе крыс ОС+ВЖД связано с предшествующим диете эпизодом ОС, а не с патофизиологией ВЖД, поскольку

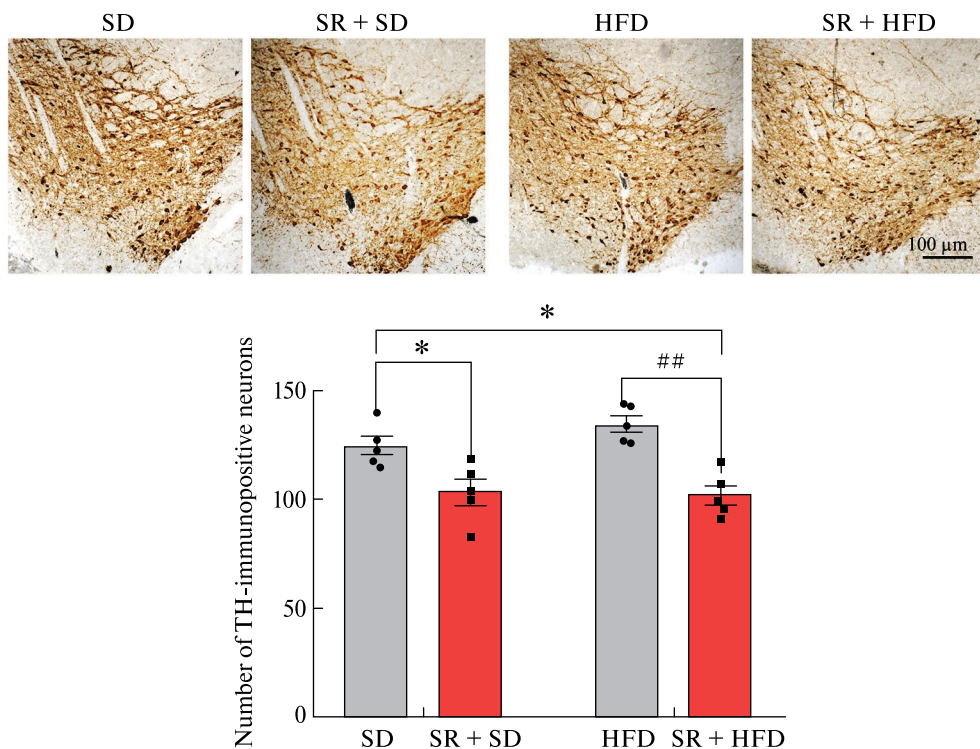


Рис. 3. Изменение количества ДА-ергических нейронов в вентральной тегментальной области среднего мозга после 5-дневного эпизода хронического недосыпания у крыс, получавших стандартный корм (SD) или высокожировую диету (HFD) в течение 8 недель.

Данные представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего ($M \pm SEM$), точками обозначены индивидуальные значения для каждой крысы. Двухфакторный дисперсионный анализ ANOVA с последующим post-hoc анализом с помощью критерия Тьюки. Различия между группами ОС+СК (SR+SD) и ОС+ВЖД (SR+HFD), по сравнению с СК, (SD) статистически значимы * при $p < 0.05$. Различия между группами ОС+ВЖД (SR+HFD), по сравнению с ВЖД (HFD), статистически значимы ## при $p < 0.01$. Фактор диета $F_{(1,16)} = 0.8547, p = 0.3690$; фактор сон $F_{(1,16)} = 32.04, p < 0.0001$; взаимодействие $F_{(1,16)} = 1.462, p = 0.2442$.

количество погибших ДА-ергических нейронов в ВТО и их аксонов в префронтальной коре в группе ОС+ВЖД значимо не отличалось от группы ОС+СК.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В последние годы при изучении экспериментальных моделей депривации сна, а также при обследовании пациентов с инсомнией в клинике получены сведения о том, что хроническая недостаточность сна является важным фактором, усугубляющим воздействие несбалансированной диеты, богатой легкими углеводами и насыщенными жирами, на массу тела и метаболические показатели, что в конечном итоге приводит к ожирению и ассоциированным с ним метаболическим расстройствам (сахарному диабету 2-го типа, метаболическому синдрому, стеатозу печени и др.) [4]. Имеются данные и о том, что сочетание ОС и высококалорийной диеты может приводить к более выраженным нарушениям функций ЦНС [2]. При этом детальные исследования метаболических и нейроповеденческих последствий при сочетанном воздействии таких факторов, как депривация

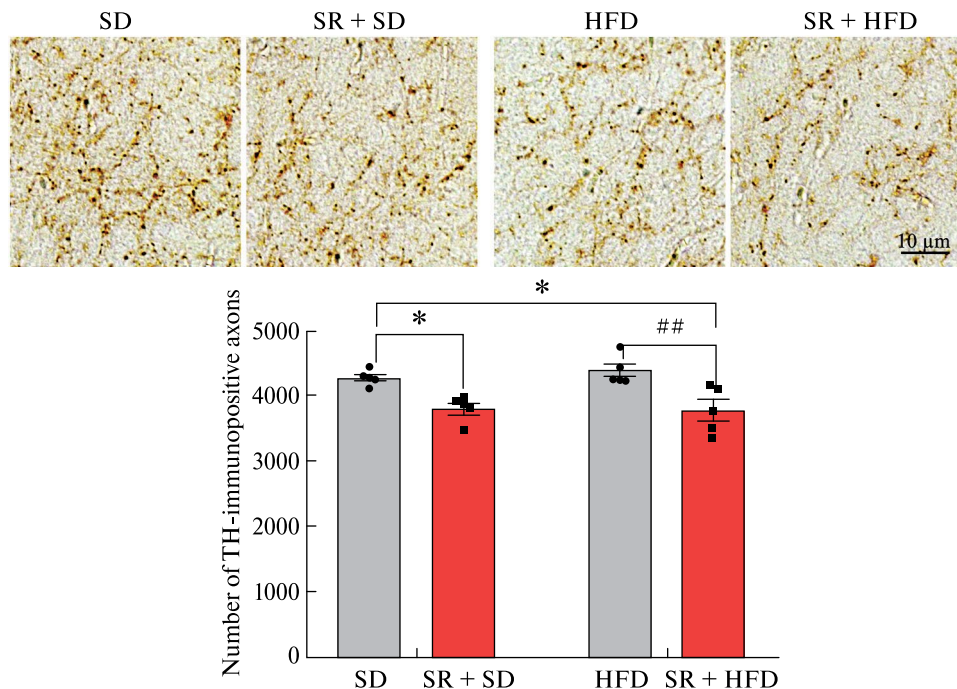


Рис. 4. Количество дофаминергических аксонов в префронтальной коре головного мозга после 5-дневного хронического недосыпания у крыс, получавших стандартный корм (SD) или высокожировую диету (HFD) в течение 8 недель. Данные представлены как среднее $\pm$ ошибка среднего ($M \pm SEM$), точками обозначены индивидуальные значения для каждой крысы. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа ANOVA с последующим post-hoc анализом с помощью критерия Тьюки. Различия между группами ОС+СК (SR+SD) и ОС+ВЖД (SR+HFD), по сравнению с СК (SD), статистически значимы * при $p < 0.05$. Различия между группами ОС+ВЖД (SR+HFD), по сравнению с ВЖД (HFD), статистически значимы ## при $p < 0.01$. Фактор диета $F_{(1, 16)} = 0.1997$, $p = 0.6610$; фактор сон $F_{(1, 16)} = 24.91$, $p = 0.0001$; взаимодействие $F_{(1, 16)} = 0.4202$, $p = 0.5261$.

сна и высококалорийная диета, не проводились. Нами проведен комплекс исследований, который позволил четко проследить влияние ОС на метаболические, гормональные и нейроповеденческие показатели и оценить вклад ВЖД в выраженность изменений этих показателей. Для того чтобы выяснить взаимовлияние ОС и диеты, были использованы сравнительно мягкая модель ОС и непродолжительная ВЖД. Так, применяемая нами модель ОС ограничивалась только пятидневным периодом в полифазном режиме 3 ч бодрствования и 1 ч сна. Согласно нашим данным, такой режим депривации сна приводил к нарушению гомеостатических механизмов регуляции медленноволнового сна и не вызывал нарушений когнитивных функций из-за коротких периодов возможности сна, положительно влияющих на сохранность памяти [30, 31]. В свою очередь, ВЖД продолжительностью 8 недель сравнительно слабо и очень избирательно влияла на метаболические и гормональные показатели у крыс линии Wistar, в отличие от влияния на эти показатели более продолжительной ВЖД (12 недель и более) [36–39]. Следует отметить, что при индукции ожирения у чувствительных к диете линий крыс, например Sprague-Dawley, восьминедельная ВЖД может приводить к значительному повышению массы тела и жира и к существенным изменениям метаболических и гормональных показателей [40]. Необходимо также подчеркнуть, что для получения выраженной патофизиологической картины тяжелого абдоминального ожирения, сахарного диабета 2-го

типа и метаболического синдрома у крыс Wistar необходимо сочетание ВЖД с введением низкой дозы стрептозотоцина или с высокоуглеводной диетой, что ранее было продемонстрировано в наших работах [41, 42].

В результате проведенного исследования показано, что ОС приводило к повышению массы тела и жировой ткани, а также к нарушению толерантности к глюкозе, оцениваемой в ИГТТ (табл. 1, 2). Это согласуется с данными других авторов о влиянии различных моделей депривации сна у грызунов на широкий спектр метаболических и гормональных показателей, причем в этом задействованы как центральные, так и периферические механизмы [12, 43–45]. В свою очередь, при сочетании ОС и ВЖД также отмечали повышение уровня инсулина через 60 мин после глюкозной нагрузки и индекса ИР, что указывает на снижение чувствительности тканей к инсулину. Крайне интересным представляется то, что в группе ВЖД без ОС не было значимых отличий массы тела и значения AUC_{0-120} , характеризующего утилизацию глюкозы в ИГТТ, от контрольной группы, в то время как в группе ОС+ВЖД такие различия выявлялись. Показано также, что в группе ОС+ВЖД, в сравнении с группой ОС+СК, повышались уровни инсулина до и после глюкозной нагрузки и индекс ИР, несмотря на то, что различий между группами ВЖД и СК по этим показателям обнаружено не было. Совокупность этих данных свидетельствует о том, что ОС само по себе является мощным индуктором метаболических нарушений, а в случае его сочетания с ВЖД потенцирует негативное влияние этой диеты на метаболические и гормональные показатели.

Проведенные нами тесты на пространственную рабочую память, эмоциональное поведение и двигательную активность в отдаленные сроки после ОС (на 56-й день) в условиях получения животными СК не выявили изменений в изучаемых показателях. При этом у крыс группы ОС+ВЖД выявлен когнитивный дефицит, в то время как у крыс, получавших ВЖД без ОС, подобного эффекта не наблюдалось. Эти данные указывают на взаимное негативное влияние сочетанного воздействия хронического недосыпания и ВЖД на когнитивные процессы.

Проведенный нами патоморфологический анализ позволяет полагать, что одной из причин нарушения рабочей памяти при ОС+ВЖД может быть нарушение структурной целостности в мезокортикальном ДА-ергическом пути, связывающем ВТО с префронтальной корой головного мозга. Как указывалось ранее, ключевую роль в поддержании рабочей памяти играет префронтальная кора с ее ДА-ергической иннервацией. Нами показано, что развитие нейродегенерации в ДА-ергической мезокортикальной системе в группе крыс ОС+ВЖД может быть связано с предшествующим диете эпизодом ОС, а не с патофизиологией ВЖД, поскольку количество погибших ДА-ергических нейронов в ВТО и их аксонов в префронтальной коре при сочетанном действии ОС+ВЖД значимо не отличалось от группы ОС+СК. Во время бодрствования нейроны ВТО проявляют пейсмейкер-подобную активность, что позволяет поддерживать достаточный уровень внеклеточного дофамина для нормальной работы мезокортикальной и мезолимбической системы [46]. Избыточная активность ДА-ергических нейронов во время непрерывного бодрствования делает их уязвимыми к метаболическим потребностям длительного бодрствования. В результате возникает нехватка АТФ, развивается митохондриальная дисфункция, нарушается окислительно-восстановительный баланс, что в конечном итоге приводит к гибели нейронов по пути апоптоза [47–49]. Немаловажный вклад в развитие нейродегенерации при хроническом ОС может вносить ослабление глимфатического клиренса головного мозга, активность которого максимальна во время глубокого сна [50, 51].

Кроме того, в группе ОС+ВЖД существенный вклад в развивающуюся дисфункцию мезокортикального пути может вносить ослабление транспорта циркулирующего в крови инсулина к тканям мозга через гематоэнцефалический барьер, характерное для ожирения и обусловленное развитием периферической ИР, а также развитие ИР в самих структурах мозга [52, 53]. Это, в свою очередь, может привести к нарушению

инсулинового сигналинга в ЦНС и, как следствие, к дисбалансу в сигнальных и нейромедиаторных системах мозга, тесно взаимодействующих с инсулиновой системой. Депривация сна у мышей приводит к ослаблению в гиппокампе инсулинового сигнального пути PI3K/Akt/GSK-3 β , который, как известно, играет важную роль в модуляции нейромедиаторных процессов, метаболизма дофамина, апоптоза, воспалительной реакции и синаптической пластичности и участвует в регуляции сна [54, 55]. Хотя конкретные механизмы влияния толерантности к глюкозе на когнитивные процессы пока неясны, тем не менее нарастающее нарушение толерантности к глюкозе в группе животных ОС+ВЖД может привести к гипергликемии. Известно, что хроническое повышение глюкозы в крови при сахарном диабете 2-го типа приводит к повреждению органов и тканей и нарушению нейромедиаторных процессов. ДА-ергические нейроны особенно уязвимы к токсическому действию гипергликемии из-за накопления в клетках метилглиоксаля (дикарбонильное соединение, способствующее гликированию белков), который оказывает пагубное влияние на секрецию дофамина и на выживаемость ДА-ергических нейронов [56]. Наши данные и данные литературы позволяют предположить, что нарушение рабочей памяти в группе животных ОС+ВЖД связано с дисрегуляцией ДА-ергической системы в префронтальной коре головного мозга.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основе проведенного комплексного исследования нами впервые отчетливо продемонстрировано, что ОС оказывает на отставленное негативное влияние на некоторые метаболические показатели у крыс (масса тела и жировой ткани, толерантность к глюкозе), а в сочетании с ВЖД изменения метаболических и гормональных показателей становятся более выраженными. В пользу этого свидетельствует повышение уровня инсулина, как базового, так и стимулированного глюкозной нагрузкой, а также признаки развития системной ИР в группе ОС+ВЖД. Наряду с этим при сочетании ОС и ВЖД отмечается снижение рабочей памяти у крыс, при этом в группах животных, которые подвергались либо ОС, либо ВЖД, нейрокогнитивных изменений обнаружено не было. Установление негативного влияния депривации сна на некоторые метаболические показатели и расширение спектра выявленных изменений в условиях сочетания ОС и несбалансированной диеты указывают на то, что комбинация этих факторов может рассматриваться как значимый фактор риска для развития метаболических заболеваний (патологическое абдоминальное ожирение, сахарный диабет 2-го типа, метаболический синдром, гепатостеатоз и др.), а также когнитивного дефицита и других расстройств ЦНС. При этом необходимо отметить, что выбранная нами схема потребления ВЖД на протяжении относительно короткого времени (8 недель) и сравнительно мягкая модель ОС сами по себе не вызывали значимых изменений чувствительности к инсулину и не оказывали влияния на память. Таким образом, изученные нами патогенетические факторы при совместном влиянии способны усиливать действие друг друга, что необходимо принимать во внимание при формировании групп риска и при ведении пациентов с этими патологиями в условиях клиники.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (И. В. Е., А. О. Ш., К. В. Д.), проведение экспериментов (М. В. Ч., Д. В. Б., М. Б. П., К. В. Д.), обработка и анализ данных (К. В. Д., М. В. Ч., М. Б. П., И. В. Е.), написание и редактирование рукописи (И. В. Е., А. О. Ш., М. В. Ч., М. Б. П.).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа выполнена в рамках государственного задания (№ 075-00263-25-00) при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все процедуры с животными осуществлялись с соблюдением принципов гуманности (Директивы Европейского Сообщества № 86/609 ЕС) и были одобрены Комиссией по этике Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН, протокол № 2-3 / 2024 от 29.02.2024.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Duan W, Mattson MP* (1999) Dietary restriction and 2-deoxyglucose administration improve behavioral outcome and reduce degeneration of dopaminergic neurons in models of Parkinson's disease. *J Neurosci Res* 57(2): 195–206.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4547\(19990715\)57:2<195::AID-JNR5>3.0.CO;2-P](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4547(19990715)57:2<195::AID-JNR5>3.0.CO;2-P)
2. *Mutti C, Malagutti G, Maraglino V, Misirocchi F, Zilioli A, Rausa F, Pizzarotti S, Spallazzi M, Rosenzweig I, Parrino L* (2023) Sleep Pathologies and Eating Disorders: A Crossroad for Neurology, Psychiatry and Nutrition. *Nutrients* 15: 4488.
<https://doi.org/10.3390/nu15204488>
3. *Reutrakul S, Van Cauter E* (2018) Sleep influences on obesity, insulin resistance, and risk of type 2 diabetes. *Metabolism* 84: 56–66.
<https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.02.010>
4. *Rogers EM, Banks NF, Jenkins NDM* (2024) The effects of sleep disruption on metabolism, hunger, and satiety, and the influence of psychosocial stress and exercise: A narrative review. *Diabet Metab Res Rev* 40(2): e3667.
<https://doi.org/10.1002/dmrr.3667>
5. *Wang W, Chen Z, Zhang W, Yuan R, Sun Y, Yao Q, Lu J, Zheng J* (2024) Association between obesity and sleep disorder in the elderly: evidence from NHANES 2005–2018. *Front Nutr* 11: 1401477.
<https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1401477>
6. *NCD Risk Factor Collaboration* (2024) Worldwide trends in underweight and obesity from 1990 to 2022: a pooled analysis of 3663 population-representative studies with 222 million children, adolescents, and adults. *The Lancet* 403: 1027–1050.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)02750-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)02750-2)
7. *Mokrysheva NG* (2022) Fighting obesity as a direction of national health care development. *Obe Metab* 19: 4–6.
<https://doi.org/10.14341/omet12865>
8. *Van Egmond LT, Meth EMS, Engström J, Ilemosoglou M, Keller JA, Vogel H, Benedict C* (2023) Effects of acute sleep loss on leptin, ghrelin, and adiponectin in adults with healthy weight and obesity: A laboratory study. *Obesity* 31: 635–641.
<https://doi.org/10.1002/oby.23616>
9. *Clemente-Suárez VJ, Beltrán-Velasco AI, Redondo-Flórez L, Martín-Rodríguez A, Tornero-Aguilera JF* (2023) Global Impacts of Western Diet and Its Effects on Metabolism and Health: A Narrative Review. *Nutrients* 15: 2749.
<https://doi.org/10.3390/nu15122749>
10. *Luppi M, Cerri M, Martelli D, Tupone D, Del Vecchio F, Di Cristoforo A, Perez E, Zamboni G, Amici R* (2014) Waking and sleeping in the rat made obese through a high-fat hypercaloric diet. *Behav Brain Res* 258: 145–152.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2013.10.014>
11. *Rodrigues GD, Fiorelli EM, Furlan L, Montano N, Tobaldini E* (2021) Obesity and sleep disturbances: The “chicken or the egg” question. *Eur J Intern Med* 92: 11–16.
<https://doi.org/10.1016/j.ejim.2021.04.017>

12. *Duan D, Kim LJ, Jun JC, Polotsky VY* (2023) Connecting insufficient sleep and insomnia with metabolic dysfunction. *Ann N Y Acad Sci* 1519: 94–117.
<https://doi.org/10.1111/nyas.14926>
13. *Kanoski SE, Davidson TL* (2010) Different patterns of memory impairments accompany short- and longer-term maintenance on a high-energy diet. *J Exp Psychol Anim Behav Process* 36: 313–319.
<https://doi.org/10.1037/a0017228>
14. *Kanoski SE, Davidson TL* (2011) Western diet consumption and cognitive impairment: Links to hippocampal dysfunction and obesity. *Physiol Behav* 103: 59–68.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2010.12.003>
15. *Abbott KN, Arnott CK, Westbrook RF, Tran DMD* (2019) The effect of high fat, high sugar, and combined high fat-high sugar diets on spatial learning and memory in rodents: A meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev* 107: 399–421.
<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2019.08.010>
16. *Jagust W, Harvey D, Mungas D, Haan M* (2005) Central Obesity and the Aging Brain. *Arch Neurol* 62(10): 1545–1548.
<https://doi.org/10.1001/archneur.62.10.1545>
17. *Ledreux A, Wang X, Schultzberg M, Granholm A-C, Freeman LR* (2016) Detrimental effects of a high fat/high cholesterol diet on memory and hippocampal markers in aged rats. *Behav Brain Res* 312: 294–304.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.06.012>
18. *Kroener S, Chandler LJ, Phillips PEM, Seamans JK* (2009) Dopamine Modulates Persistent Synaptic Activity and Enhances the Signal-to-Noise Ratio in the Prefrontal Cortex. *PLoS One* 4: e6507.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006507>
19. *Vander Weele CM, Siciliano CA, Matthews GA, Namburi P, Izadmehr EM, Espinel IC, Nieh EH, Schut EHS, Padilla-Coreano N, Burgos-Robles A, Chang C-J, Kimchi EY, Beyeler A, Wichmann R, Wildes CP, Tye KM* (2018) Dopamine enhances signal-to-noise ratio in cortical-brainstem encoding of aversive stimuli. *Nature* 563: 397–401.
<https://doi.org/10.1038/s41586-018-0682-1>
20. *Украинцева ЮВ, Левкович КМ* (2022) Негативное влияние нарушений сна на рабочую память может быть опосредовано изменениями углеводного обмена. *Журн неврол психиатр им СС Корсакова* 122(5-2): 1–17. [*Ukrainitseva YuV, Liaukovich KM* (2022) The negative impact of sleep disorders on working memory may be mediated by changes in carbohydrate metabolism. *Zh Nevrol Psikhiatr im SS Korsakova* 122(5-2): 1–17. (In Russ)].
<https://doi.org/10.17116/jnevro202212205211>
21. *MacQueen G, Frodl T* (2011) The hippocampus in major depression: evidence for the convergence of the bench and bedside in psychiatric research? *Mol Psychiatry* 16: 252–264.
<https://doi.org/10.1038/mp.2010.80>
22. *Bannerman DM, Sprengel R, Sanderson DJ, McHugh SB, Rawlins JNP, Monyer H, Seeburg PH* (2014) Hippocampal synaptic plasticity, spatial memory and anxiety. *Nat Rev Neurosci* 15: 181–192.
<https://doi.org/10.1038/nrn3677>
23. *Antonova KV, Tanashyan MM, Raskurazhev AA, Spryshkov NE, Panina AA, Lagoda OV, Ametov AS, Troshina EA* (2024) Obesity and the nervous system. *Obe Metab* 21: 68–78.
<https://doi.org/10.14341/omet13019>
24. *Faith MS, Matz PE, Jorge MA* (2002) Obesity–depression associations in the population. *J Psychosom Res* 53: 935–942.
[https://doi.org/10.1016/S0022-3999\(02\)00308-2](https://doi.org/10.1016/S0022-3999(02)00308-2)
25. *Stranahan AM, Norman ED, Lee K, Cutler RG, Telljohann RS, Egan JM, Mattson MP* (2008) Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats. *Hippocampus* 18: 1085–1088.
<https://doi.org/10.1002/hipo.20470>
26. *Vagena E, Ryu JK, Baeza-Raja B, Walsh NM, Syme C, Day JP, Houslay MD, Baillie GS* (2019) A high-fat diet promotes depression-like behavior in mice by suppressing hypothalamic PKA signaling. *Transl Psychiatry* 9: 141.
<https://doi.org/10.1038/s41398-019-0470-1>

27. Zhuang H, Yao X, Li H, Li Q, Yang C, Wang C, Xu D, Xiao Y, Gao Y, Gao J, Bi M, Liu R, Teng G, Liu L (2022) Long-term high-fat diet consumption by mice throughout adulthood induces neurobehavioral alterations and hippocampal neuronal remodeling accompanied by augmented microglial lipid accumulation. *Brain Behav Immun* 100: 155–171.
<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2021.11.018>
28. Sinha R (2018) Role of addiction and stress neurobiology on food intake and obesity. *Biol Psychol* 131: 5–13.
<https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2017.05.001>
29. Hennecke E, Lange D, Steenbergen F, Fronczek-Poncelet J, Elmenhorst D, Bauer A, Aeschbach D, Elmenhorst E (2021) Adverse interaction effects of chronic and acute sleep deficits on spatial working memory but not on verbal working memory or declarative memory. *J Sleep Res* 30(4): e13225.
<https://doi.org/10.1111/jsr.13225>
30. Chernyshev MV, Guseev MA, Ekimova IV (2023) Effect of Acute and Chronic Sleep Deficit on Working and Long-Term Memory in Rats. *J Evol Biochem Physiol* 59: 2129–2140.
<https://doi.org/10.1134/S0022093023060182>
31. Гузеев МА, Курмазов НС, Симонова ВВ, Пастухов ЮФ, Екимова ИВ (2021) Создание модели хронического недосыпания для трансляционных исследований. *Журн неврол психиатр им СС Корсакова* 121(4-2): 6–13. [Guzeev MA, Kurmazov NS, Simonova VV, Pastukhov YuF, Ekimova IV (2021) Modeling of chronic sleep restriction for translational studies. *Zhurn Nevrol Psikhiatr im SS Korsakova* 121(4-2): 6–13. (In Russ)].
<https://doi.org/10.17116/jnevro20211214026>
32. Derkach KV, Pechalnova AS, Sorokoumov VN, Zorina II, Morina IY, Chernenko EE, Didenko EA, Romanova IV, Shpakov AO (2025) Effect of a Low-Molecular-Weight Allosteric Agonist of the Thyroid-Stimulating Hormone Receptor on Basal and Thyroliberin-Stimulated Activity of Thyroid System in Diabetic Rats. *Int J Mol Sci* 26: 703.
<https://doi.org/10.3390/ijms26020703>
33. Hidaka N, Suemaru K, Takechi K, Li B, Araki H (2011) Inhibitory effects of valproate on impairment of Y-maze alternation behavior induced by repeated electroconvulsive seizures and c-Fos protein levels in rat brains. *Acta Med Okayama* 65: 269–277.
<https://doi.org/10.18926/AMO/46853>
34. Paxinos G, Watson C (2007) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 6th ed. Elsevier. Amsterdam.
35. Pazi MB, Belan DV, Komarova EY, Ekimova IV (2024) Intranasal Administration of GRP78 Protein (HSPA5) Confers Neuroprotection in a Lactacystin-Induced Rat Model of Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci* 25: 3951.
<https://doi.org/10.3390/ijms25073951>
36. Shinlapawittayatorn K, Pongkan W, Sivasinprasasn S, Chattipakorn SC, Chattipakorn N (2022) Sexual dimorphism in cardiometabolic and cardiac mitochondrial function in obese rats following sex hormone deprivation. *Nutr Diabetes* 12: 11.
<https://doi.org/10.1038/s41387-022-00189-0>
37. Saiyasit N, Chunchai T, Prus D, Suparan K, Pittayapong P, Apaijai N, Pratchayasakul W, Sripetchwandee J, Chattipakorn MD, Chattipakorn SC (2020) Gut dysbiosis develops before metabolic disturbance and cognitive decline in high-fat diet-induced obese condition. *Nutrition* 69: 110576.
<https://doi.org/10.1016/j.nut.2019.110576>
38. Lin C, Wu TT-L, Chang C, Cheng J, Tong Y (2018) Changes of Bladder M_{1,3} Muscarinic Receptor Expression in Rats Fed with Short-Term/Long-Term High-Fat Diets. *LUTS: Lower Urinary Tract Symptoms* 10: 315–319.
<https://doi.org/10.1111/luts.12171>
39. Milanova IV, Kalsbeek MJT, Wang X-L, Korpel NL, Stenvers DJ, Wolff SEC, de Goede P, Heijboer AC, Fliers E, la Fleur SE, Kalsbeek A, Yi C-X (2019) Diet-Induced Obesity Disturbs Microglial Immunometabolism in a Time-of-Day Manner. *Front Endocrinol (Lausanne)* 10: 424.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00424>
40. Yu C, Wan X, Li D, Guo X (2023) Reduction of obesity and hepatic adiposity in high-fat diet-induced rats by besunyen slimming tea. *Heliyon* 9: e17383.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17383>
41. Derkach KV, Sukhov IB, Bondareva VM, Shpakov AO (2018) The effect of Metformin on metabolic parameters and hypothalamic signaling systems in rats with obesity induced by a high-carbohydrate/high-fat diet. *Adv Gerontol* 31: 139–146.

42. *Derkach KV, Bakhtyukov AA, Romanova IV, Zorina II, Bayunova LV, Bondareva VM, Morina IYu, Kumar Roy V, Shpakov AO* (2020) The effect of metformin treatment on the basal and gonadotropin-stimulated steroidogenesis in male rats with type 2 diabetes mellitus. *Andrologia* 52(11): e13816. <https://doi.org/10.1111/and.13816>
43. *Barf RP, Van Dijk G, Scheurink AJW, Hoffmann K, Novati A, Hulshof HJ, Fuchs E, Meerlo P* (2012) Metabolic consequences of chronic sleep restriction in rats: Changes in body weight regulation and energy expenditure. *Physiol Behav* 107: 322–328. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2012.09.005>
44. *Moraes DA, Venancio DP, Suchecki D* (2014) Sleep deprivation alters energy homeostasis through non-compensatory alterations in hypothalamic insulin receptors in Wistar rats. *Horm Behav* 66: 705–712. <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2014.08.015>
45. *Venancio DP, Suchecki D* (2015) Prolonged REM sleep restriction induces metabolic syndrome-related changes: Mediation by pro-inflammatory cytokines. *Brain Behav Immun* 47: 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.12.002>
46. *Yin HH, Ostlund SB, Balleine BW* (2008) Reward-guided learning beyond dopamine in the nucleus accumbens: the integrative functions of cortico-basal ganglia networks. *Eur J Neurosci* 28: 1437–1448. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06422.x>
47. *Zhang J, Zhu Y, Zhan G, Fenik P, Panossian L, Wang MM, Reid S, Lai D, Davis JG, Baur JA, Veasey S* (2014) Extended Wakefulness: Compromised Metabolics in and Degeneration of Locus Coeruleus Neurons. *J Neurosci* 34: 4418–4431. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5025-12.2014>
48. *Zhu Y, Fenik P, Zhan G, Somach R, Xin R, Veasey S* (2016) Intermittent Short Sleep Results in Lasting Sleep Wake Disturbances and Degeneration of Locus Coeruleus and Orexinergic Neurons. *Sleep* 39: 1601–1611. <https://doi.org/10.5665/sleep.6030>
49. *Pazi MB, Ekimova IV* (2024) Intranasal administration of GRP78 protein (HSPA5) counteracts the neurodegeneration in the locus coeruleus in a model of chronic sleep restriction in rats. *J Evol Biochem Phys* 60(4): 1630–1641. <https://doi.org/10.1134/S002209302404029X>
50. *Xie L, Kang H, Xu Q, Chen MJ, Liao Y, Thiagarajan M, O'Donnell J, Christensen DJ, Nicholson C, Iliff JJ, Takano T, Deane R, Nedergaard M* (2013) Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain. *Science* (1979) 342: 373–377. <https://doi.org/10.1126/science.1241224>
51. *Lapshina KV, Ekimova IV* (2024) Aquaporin-4 and Parkinson's Disease. *Int J Mol Sci* 25: 1672. <https://doi.org/10.3390/ijms25031672>
52. *Shpakov AO, Derkach KV, Berstein LM* (2015) Brain Signaling Systems in the Type 2 Diabetes and Metabolic Syndrome: Promising Target to Treat and Prevent These Diseases. *Future Sci OA* 1(3): FSO25. <https://doi.org/10.4155/fso.15.23>
53. *Derkach K, Zakharova I, Zorina I, Bakhtyukov A, Romanova I, Bayunova L, Shpakov A* (2019) The evidence of metabolic-improving effect of metformin in Ay/a mice with genetically-induced melanocortin obesity and the contribution of hypothalamic mechanisms to this effect. *PLoS One* 14: e0213779. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213779>
54. *Ahnaou A, Drinkenburg WHIM* (2011) Disruption of glycogen synthase kinase-3-beta activity leads to abnormalities in physiological measures in mice. *Behav Brain Res* 221: 246–252. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.03.004>
55. *Wan Y, Gao W, Zhou K, Liu X, Jiang W, Xue R, Wu W* (2022) Role of IGF-1 in neuroinflammation and cognition deficits induced by sleep deprivation. *Neurosci Lett* 776: 136575. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2022.136575>
56. *Pignatola FC, Desiderio A, Mirra P, Nigro C, Perruolo G, Ulianich L, Formisano P, Beguinot F, Miele C, Napoli R, Fiory F* (2021) Diabetes and Cognitive Impairment: A Role for Glucotoxicity and Dopaminergic Dysfunction. *Int J Mol Sci* 22: 12366. <https://doi.org/10.3390/ijms22212366>

Separate and Combined Effects of Chronic Sleep Deprivation and High-Fat Diet on Metabolic Parameters and Neurobehavioral Functions in Rats

**M. V. Chernyshev^{a, *}, M. B. Pazi^a, D. V. Belan^a, A. O. Shpakov^a, K. V. Derkach^a,
and I. V. Ekimova^a**

*^aSechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences,
Saint Petersburg, Russia*

**e-mail: netmisha@mail.ru*

Among the negative consequences of chronic lack of sleep, obesity and its associated metabolic and neurobehavioral disorders occupy a significant position. Chronic lack of sleep leads to increased appetite and a preference for high-calorie foods, thereby provoking a higher risk of developing obesity. The cause-effect relations between short sleep duration and the pathophysiology of obesity, as well as the effects of their combined impact on the organism, remain poorly studied. The aim of this study was to compare the effects of sleep restriction (SR) and high-fat diet (HFD)-induced obesity, both separately and combined, on metabolic parameters and neurobehavioral functions in rats. In the study a model of chronic SR (3 hours of sleep deprivation on a moving platform and 1 hour of rest daily for 5 days) and HFD feeding (8 weeks) was used in male Wistar rats. Control animals received standard dry feed. It has been established that SR leads to an increase in body weight and adipose tissue and impaired glucose tolerance, and with the combination of SR and HFD, the spectrum of metabolic and hormonal disorders expands, including decreased insulin sensitivity, as indicated by an increase in insulin levels and the insulin resistance index. We have demonstrated for the first time that when SR is combined with HFD, neurocognitive indicators, in particular working memory, are also impaired, as evidenced by a decrease in spontaneous alternation in the Y-shaped maze test, while in groups with only SR or HFD, these indicators did not change. It was found that impaired working memory in the SR+HFD group may be associated with dysregulation of the dopaminergic system in the prefrontal cortex. The combined effects of SR and HFD may be considered as a significant risk factor for the development of metabolic disorders and cognitive deficits.

Keywords: chronic sleep restriction, high-fat diet, metabolic parameters, working memory, mesocortical system, rats