

ВЛИЯНИЕ КЛОМИПРАМИНА НА ТРЕВОЖНО-ДЕПРЕССИВНОЕ СОСТОЯНИЕ, ВЫЗВАННОЕ ХРОНИЧЕСКИМ СОЦИАЛЬНЫМ СТРЕССОМ У САМЦОВ МЫШЕЙ

ДМИТРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ СМАГИН

Институт цитологии и генетики СО РАН, Сектор нейрогенетики социального поведения, мл. научн. сотр.;
акад. Лаврентьева пр-кт, 10, Новосибирск, 630090, Россия, тел.: +7 383-363-49-65, e-mail: smagin@bionet.nsc.ru

АННА ГЕОРГИЕВНА ГАЛЯМИНА

Институт цитологии и генетики СО РАН, Сектор нейрогенетики социального поведения, студентка; акад. Лаврентьева пр-кт, 10, Новосибирск, 630090, Россия, тел.: +7 383-363-49-65, e-mail: galiamina.anna@yandex.ru

НАТАЛЬЯ ПЕТРОВНА БОНДАРЬ

Институт цитологии и генетики СО РАН, Сектор нейрогенетики социального поведения, канд. биол. наук;
акад. Лаврентьева пр-кт, 10, Новосибирск, 630090, Россия, тел.: +7 383-363-49-65, e-mail: nbondar@bionet.nsc.ru

НАТАЛИЯ НИКОЛАЕВНА КУДРЯВЦЕВА

Институт цитологии и генетики СО РАН, Сектор нейрогенетики социального поведения, зав. сектором, д-р биол. наук;
акад. Лаврентьева пр-кт, 10, Новосибирск, 630090, Россия, тел.: +7 383-363-49-65, e-mail: n.n.kudryavtseva@gmail.com

Резюме

ОБОСНОВАНИЕ: Хронический социальный стресс, вызванный повторным опытом поражений в ежедневных агонистических взаимодействиях, ведет к развитию тревожно-депрессивного состояния у самцов мышей. *Целью этого исследования* было изучение того, как под влиянием антидепрессанта кломипрамина может изменяться психоэмоциональное состояние у таких животных с акцентом на изучение его эффектов на уровень тревожности и депрессивности.

МЕТОДЫ: Кломипрамин (20 и 40 мг/кг, в/б, SIGMA) и для сравнения физиологический раствор вводили депрессивным самцам мышей в течение 2-х недель на фоне относительного отдыха, в течение которого агонистические взаимодействия прекращались. По окончании самцов исследовали в тестах «перегородка», «приподнятый крестообразный лабиринт» и в тесте Порсолта.

РЕЗУЛЬТАТЫ: Хронически вводимый кломипрамин в дозе 40 мг/кг еще больше снизил коммуникативность, оцениваемую тестом «перегородка», оказал выраженный анксиогенный эффект в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт», снизил двигательную и исследовательскую активность у депрессивных самцов мышей. Тест Порсолта выявил выраженный антидепрессивный эффект кломипрамина, оцениваемый увеличением латентного времени полной неподвижности и снижением суммарного времени пассивного плавания. Увеличение времени активного плавания может свидетельствовать о стимулирующем эффекте кломипрамина, поскольку этот параметр был выше даже по сравнению с контролем (интактным состоянием). Кломипрамин в дозе 20 мг/кг оказал антидепрессивный эффект, не повлияв на повышенный уровень тревожности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: Кломипрамин оказал анксиогенный и антидепрессивный эффект, что позволяет говорить о независимом влиянии препарата на состояние депрессии и тревоги, во всяком случае, под влиянием большой дозы.

Получена: 22 марта 2011 г.; Принята: 14 июня 2011 г.

Цитирование этой статьи: Психофармакол биол наркол. 2011; 11 (1–2): 2666–2676

Корреспонденцию следует отправлять Наталии Николаевне Кудрявцевой n.n.kudryavtseva@gmail.com

Ключевые слова

хронический социальный стресс; тревожно-депрессивное расстройство; кломипрамин

ВВЕДЕНИЕ

При диагностике психоэмоциональных заболеваний у пациентов часто отмечают проявление симптомов депрессии и тревоги одновременно [1–3]. Эти состояния называют тревожной депрессией или тревожно-депрессивным расстройством [3, 4]. При этом описываются разные сочетания тревоги и депрессии [5]. Предполагается, например, что они могут быть вызваны одной причиной, или же тревога предшествует депрессии. Выделяют тревожно-депрессивное расстройство как заболевание, характеризующееся явно выраженными симптомами тревоги с менее выраженными симптомами депрессии [6]. По другой классификации депрессию с подпороговыми симптомами тревоги называют тревожной депрессией, а заболевание с подпороговыми симптомами тревоги и депрессии — смешанным тревожно-депрессивным расстройством [7].

В эксперименте показано, что у самцов мышей под влиянием хронического социального стресса, вызванного повторным опытом социальных поражений, формируется тревожно-депрессивное состояние [8–10], которое по симптоматике, чувствительности к антидепрессантам и анксиолитикам, нейрохимическим изменениям в мозге соответствует изменениям, сходными с теми, что наблюдаются у депрессивных больных с проявлениями тревоги [5]. При этом, развитие тревоги у мышей предшествовало появлению депрессивно-подобных состояний [9, 10].

Эксперименты показали, что анксиолитики (этанол, ипсапирон, буспирон) при превентивном хроническом введении в процессе формирования тревожно-депрессивного расстройства оказали выраженный анксиолитический эффект, но у этих препаратов не было антидепрессивного эффекта [11, 12]. В то же время антидепрессанты тианептин и имипрамин оказали антидепрессивный эффект, однако тианептин практически не повлиял на тревожность [13], а имипрамин оказал некоторый анксиогенный эффект [8]. Эти данные свидетельствуют о том, что препараты с различным механизмом действия могут независимо влиять на эти два состояния — тревожность и депрессию. В то же время литий-содержащий энтеросорбент ноолит [14] оказал выраженный анксиолитический и антидепрессивный эффект [15] как при превентивном, так и при лечебном воздействии, при котором препарат вводится животным, у которых уже было сформировано тревожно-депрессивное расстройство. И эти данные опровергли выдвинутое предположение о независимости формирования высо-

кого уровня тревожности и депрессивности и свидетельствовали об их взаимосвязанности. Очевидно, что это мнение тоже может иметь право на существование, поскольку показано, например, что серотонергическая система вовлечена в формирование и тревоги [16, 17], и депрессии [18]. Существующие представления связывают повышенное состояние тревожности с активацией серотонергической системы [16], а развитие депрессии с ее низкой функциональной активностью [19]. Кроме того, в механизмы и тревоги и депрессии вовлечены и катехоламинергические системы мозга, причем предполагается, что при депрессии активности дофаминергических и норадренергической систем мозга снижены [20–23].

Возникал вопрос, является ли развивающееся состояние у мышей смешанным тревожно-депрессивным расстройством, в котором состоянии тревоги и депрессии формируются независимо друг от друга и требуют специфической коррекции, или же это отдельное заболевание — тревожная депрессия, в котором оба состояния тесно взаимосвязаны общими регуляторными механизмами? Вопрос классификации сформированного тревожно-депрессивного состояния у животных в наших экспериментальных условиях является принципиальным. Известно, что тревожная депрессия у людей наиболее трудно поддается лечению, часто сопровождается рецидивами и суицидальными попытками [24]. Если бы удалось подтвердить, что используемая нами модель является (или не является) моделью тревожной депрессии, тогда можно было бы предлагать ее для поиска адекватной фармакологической терапии, способной предотвращать возникновение рецидивов.

В данной работе для коррекции сформированного тревожно-депрессивного состояния у мышей был использован антидепрессант кломипрамин, который используется в клинике для лечения депрессии у людей. Этот препарат был выбран в связи с его механизмом действия — он эффективно блокирует обратный захват серотонина и норадреналина [25], стимулируя медиаторные системы, активность которых, как предполагается, при депрессии у людей снижена [19]. Аналогичные данные о сниженной функциональной активности серотонергической и катехоламинергических систем были получены и в наших экспериментах на тревожно-депрессивных мышках [10]. Целью этого исследования было изучение влияния кломипрамина на изменение психоэмоционального состояния у животных с акцентом на изучение его прямых эффектов на уровень тревожности и депрессивности.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на половозрелых самцах мышей линии C57BL/6J в возрасте 2,5–3 мес., массой тела 26–28 г, которых разводили в стандартных условиях вивария Института цитологии и генетики СО РАН, пищу (гранулы) и воду животные получали в неограниченном количестве при световом режиме 12 × 12 часов. Все эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC)).

Формирование тревожно-депрессивного состояния у самцов мышей под влиянием хронического социального стресса

Тревожно-депрессивное состояние вызывали хроническим социальным стрессом, вызванным повторным опытом социальных поражений в ежедневных межсамцовых конфронтациях [26]. Животных попарно помещали в экспериментальные клетки, разделенные пополам прозрачной перегородкой с отверстиями, позволявшей мышам видеть, слышать, воспринимать запахи друг друга (сенсорный контакт), но предотвращавшей физическое взаимодействие. Ежедневно во второй половине дня (15.00–17.00 час) убирала перегородку, что приводило к агонистическим взаимодействиям. Во время первых 2–3 дней тестов выявляли победителей (агрессоров), и особей, терпящих поражения (побежденные самцы, жертвы) при взаимодействии с одним и тем же партнером. В дальнейшем ежедневно после теста побежденного самца пересаживали в новую клетку к незнакомому агрессивному партнеру, сидящему за перегородкой. Взаимодействие самцов прекращали, если интенсивные атаки со стороны нападающей особи во время агрессивных столкновений длились более 3 минут, вновь устанавливая между ними перегородку. В других ситуациях тест продолжался 10 минут. После 20-ти дней у самцов с повторным опытом социальных поражений развивается тревожно-депрессивное состояние [9, 10]. В качестве контроля использовали самцов, помещенных на пять дней в индивидуальные клетки для снятия эффекта групповых взаимодействий и не имевших последовательного опыта агонистических взаимодействий. Предполагается, что это наиболее оптимальный контроль в наших экспериментальных условиях, который рассматривается в качестве интактного состояния (норма) мышей [26].

Фармакологическое воздействие

Для купирования тревожно-депрессивного состояния животных использовали трициклический антидепрессант кломипрамин (clomipramine). От своего аналога имипрамина, который длительное время использовался как антидепрессант в клинической практике, отличается наличием в молекуле атома хлора. По фармакологическим свойствам также близок к имипрамину [25], увеличивая содержание моноаминов в синаптической щели, путем блокады обратного нейронального захвата серотонина и норадреналина [27]. Оказывает выраженное тимолептическое действие с менее выраженным, чем у имипрамина, стимулирующим компонентом. Применяют при разных формах депрессий, в том числе при глубоких, затяжных формах. Полагают, что в отличие от имипрамина, кломипрамин обычно не усиливает страха и тревоги [25].

На следующий день после 20-й конфронтации одной группе тревожно-депрессивных мышей начинали вводить физиологический раствор в течение двух недель, другой группе вводили в аналогичном режиме кломипрамин (20 мг/кг, 40 мг/кг, в/б, SIGMA). Дозы препарата были подобраны в соответствии с используемыми в литературе для мышей [28–30] и проверены в предварительных экспериментах. В период фармакологического воздействия агонистические взаимодействия между мышами были прекращены: перегородка не убиралась. Лечебный эффект препарата на тревожно-депрессивное состояние самцов мышей исследовали в различных поведенческих тестах при сравнении с группой тревожно-депрессивных самцов, которым вводили физиологический раствор. Эффективность препарата выясняли при сравнении с контрольным состоянием животных [13].

Поведенческие тесты

Тест «перегородка» [31]. Тест оценивает поведенческую реакцию животных на партнера в соседнем отсеке общей клетки, разделенной прозрачной перегородкой с отверстиями. При тестировании крышка экспериментальной клетки заменяется прозрачным стеклом, и через 5 мин. (период активации животных и привыкания к новым условиям освещения) оцениваются следующие поведенческие параметры за 5 минут теста: а) число подходов к перегородке; б) общее время, проведенное около перегородки, когда мышь касается ее лапами или носом, реагируя на партнера в соседнем отсеке. Время, когда особи демонстрировали боковые позы, не обращая внимания на соседа или сидели около перегородки спиной к ней, не учитывалось.

Осуществлялась видеозапись поведения жертв в реакции на знакомого партнера (агрессора, с которым жертва жила в общей клетке через перегородку сутки) в соседнем отсеке общей клетки, затем знакомый партнер заменялся незнакомым (групповой особью) и поведенческая реакция снова записывалась в течение 5 минут.

Тест «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) широко используется для выявления анксиолитических и анксиогенных свойств препаратов [32]. Лабиринт состоит из двух открытых ($25 \times 5 \times 30$ см) и двух закрытых ($25 \times 5 \times 30$ см) рукавов, расположенных крестообразно и установленных на высоте 50 см от пола. Все измерения проводились в затемненной комнате для тестирования.

Экспериментальная клетка с исследуемой особью приносилась в ту же комнату за 5 минут до тестирования (период активации) перед помещением в крестообразный лабиринт.

За 5 минут определялись параметры теста: число входов в открытые рукава, в центр и в закрытые рукава, представленные в виде процента от общего числа входов и выходов; время, проведенное в открытых рукавах, в центре и в закрытых рукавах, представленное в виде процента от общего времени тестирования, а также дополнительные параметры: число заглядываний под лабиринт, число заглядываний из закрытых рукавов, число переходов из одного закрытого рукава в другой. Лабиринт тщательно мыли и высушивали салфетками после каждого животного.

Тест Порсолта. Поведение животных в этом тесте является чувствительным к действию антидепрессантов [33] и может оценивать уровень депрессивности у самцов мышей. После 5 минут активации животных помещали в стакан с водой (20 см высоты и 9 см внутренний диаметр, температура воды $t = 25 \pm 1$ °C) и в течение 5 минут фиксировали общее время (с): активного плавания, в течение которого животные старались активно выбраться из ситуации, искали выход; общее время пассивного плавания животных — суммарное время полной неподвижности (зависание, иммобильность) и времени, когда животное поддерживало себя на поверхности слабыми движениями одной-двух лап.

Кроме того, фиксировали латентное время демонстрации полной иммобильности, которое регистрировали в том случае, если животные находились в этой позе не менее 3-4 секунд. Вода в стакане менялась после каждой особи.

Поведение мышей всех экспериментальных групп исследовали в режиме один тест в день в последовательности: перегородка, ПКЛ, тест Порсолта.

Статистическая обработка

Проверка нормальности распределения количественных признаков была проведена с использованием критерия Шапиро—Уилка (Shapiro—Wilk's W-test). Поскольку выборки исследованных показателей удовлетворяли гипотезе о нормальном распределении, были использованы методы параметрической статистики: однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с фактором «группа» (контроль, тревожно-депрессивные самцы с введением физиологического раствора и тревожно-депрессивные самцы с введением препарата); t-критерий Стьюдента был использован для сравнения независимых и зависимых выборок. Анализ данных производился с помощью программы Statistica 6.0. Различия между экспериментальными группами считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$, на уровне тенденции — при $0,05 < p < 0,1$.

Данные представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего. В экспериментальных группах было по 10–15 животных.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние кломипрамина на поведение тревожно-депрессивных самцов мышей в тесте «перегородка»

В эксперименте с введением тревожно-депрессивным животным кломипрамина в дозе 40 мг/кг ANOVA выявил достоверное влияние фактора «группа» для параметра числа подходов в реакции на знакомого ($F(2,29) = 18,35; p < 0,0001$) и незнакомого ($F(2,29) = 15,38; p < 0,0001$) партнера, а также для параметра общее время реакции на знакомого ($F(2,29) = 13,34; p < 0,0001$) и незнакомого ($F(2,29) = 17,52; p < 0,0001$) партнера.

Попарные сравнения экспериментальных групп по показателям теста выявили сниженные параметры числа и времени пребывания возле перегородки у тревожно-депрессивных животных после введения физиологического раствора и кломипрамина по сравнению с интактным состоянием (контролем) в реакции на знакомого партнера (для всех сравнений $p < 0,001$). Было выявлено сниженное значение общего времени, проведенного возле перегородки в реакции на незнакомого партнера у тревожно-депрессивных животных на фоне введения физиологического раствора ($p < 0,05$) и сниженные значения обоих показателей теста у животных с введением кломипрамина (для обоих $p < 0,001$) по сравнению с контролем (рис. 1). Притом, в группе с введением

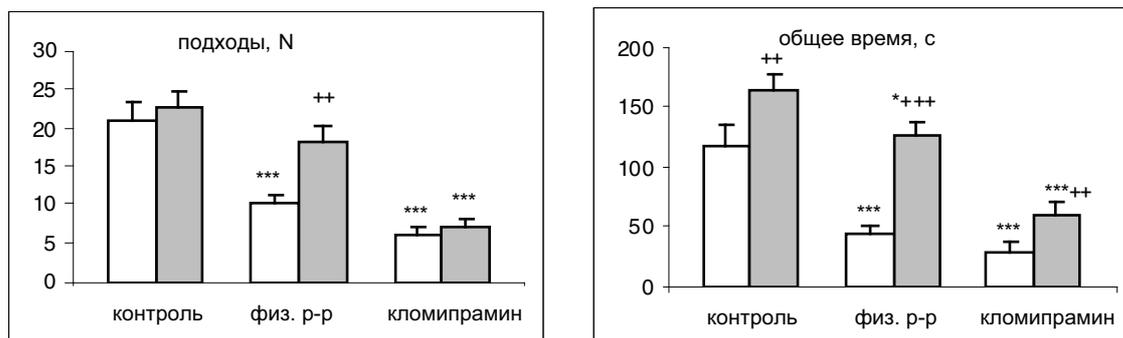


Рис. 1

Влияние кломипрамина (40 мг/кг) на поведение тревожно-депрессивных самцов в тесте «перегородка»

Белые столбцы — поведенческая реакция на знакомого партнера, серые столбцы — реакция на незнакомого партнера. * — $p < 0,05$, *** — $p < 0,001$ по сравнению с соответствующим партнером у контроля; + — $p < 0,05$, +++ — $p < 0,001$ по сравнению с реакцией на знакомого партнера, t — критерий.

кломипрамина оба параметра имели более низкие значения по сравнению с самцами, которым вводили физиологический раствор (для обоих $p < 0,001$). Реакция на незнакомого партнера по сравнению с реакцией на знакомого была существенно выше в группе самцов, которым вводили физиологический раствор по числу подходов ($p < 0,01$) и времени пребывания ($p < 0,001$). Были обнаружены различия в реакции на незнакомого партнера по сравнению с реакцией на знакомого по времени, проведенном возле перегородки, в группе контрольных ($p < 0,007$) и «кломипраминовых» ($p < 0,005$) животных.

Таким образом, период относительного отдыха, при котором агонистические взаимодействия были прекращены, не привел к изменению реакции на знакомого партнера (агрессора), но повысил интерес к незнакомому неагрессивному партнеру, что свидетельствует о снижении реакции страха. Кломипрамин предотвратил восстановление коммуникативности после периода отдыха и не повлиял существенно на параметры теста по отношению к тревожно-депрессивным самцам, которым вводили физиологический раствор, что может свидетельствовать об анксиогенном (антикоммуникативном) эффекте кломипрамина.

В эксперименте с введением кломипрамина в дозе 20 мг/кг тревожно-депрессивным животным ANOVA выявил достоверное влияние фактора «группа» для параметров число подходов к перегородке ($F(2,36) = 16,1$; $p < 0,0001$) и общее время пребывания возле нее в реакции на знакомого партнера ($F(2,36) = 24,6$; $p < 0,0001$). Парные сравнения экспериментальных групп показали, что у тревожно-депрессивных животных после введения физио-

логического раствора и кломипрамина число подходов и общее время пребывания возле перегородки в реакции на знакомого партнера по сравнению с контролем были существенно ниже (для всех сравнений $p < 0,001$) (табл. 1). Кломипрамин в дозе 20 мг/кг не оказал какого-либо эффекта на параметры поведения в этом тесте.

Влияние кломипрамина на поведение тревожно-депрессивных самцов мышей в тесте приподнятого крестообразного лабиринта

ANOVA выявил достоверное влияние фактора «группа» у животных при введении дозы 40 мг/кг для параметров: % числа выходов в закрытые рукава ($F(2,29) = 3,93$; $p < 0,031$); % времени пребывания в центре ($F(2,29) = 3,43$; $p < 0,046$) и закрытых рукавах ($F(2,29) = 4,24$; $p < 0,024$), общего числа входов/выходов в рукава ($F(2,29) = 10,62$; $p < 0,001$); переходов из одного закрытого рукава в другой ($F(2,29) = 5,65$; $p < 0,008$); числа заглядываний под лабиринт ($F(2,29) = 4,53$; $p < 0,019$) и вставаний на задние лапы ($F(2,29) = 15,68$; $p < 0,00002$).

Попарные сравнения экспериментальных групп по показателям теста (табл. 2) показали, что у животных, которым вводили физиологический раствор на фоне относительного покоя, % числа выходов в центр, общее число входов/выходов и вставаний на задние лапы было существенно ниже, чем у контроля (для всех $p < 0,05$). В то же время после введения кломипрамина в дозе 40 мг/кг различия с контролем

Таблица 1

Эффект кломипрамина (20 мг/кг) на поведение тревожно-депрессивных самцов мышей в поведенческих тестах

Поведенческие параметры	Контроль	Тревожно-депрессивные мыши								
		физиологический раствор			кломипрамин					
тест «Перегородка»										
Подходы, N	aaa	24,3	±	1,7	15,0	±	0,8***	14,2	±	1,5***
Общее время, с	aaa	123,3	±	6,4	71,9	±	6,8***	59,7	±	7,6***
тест «Приподнятый крестообразный лабиринт»										
Открытые рукава, с (%)	aaa	6,7	±	1,8	0,4	±	0,2***	0,6	±	0,4***
Открытые рукава, N (%)	aaa	12,4	±	2,5	2,6	±	1,5**	2,2	±	1,2***
Центр, с (%)	aa	17,5	±	2,3	8,4	±	1,6**	8,7	±	1,7**
Центр, N (%)		49,2	±	0,5	49,6	±	0,6	50,7	±	0,4*
Закрытые рукава, с (%)	aaa	75,7	±	2,9	91,2	±	1,7***	90,8	±	2,0***
Закрытые рукава, N (%)	aaa	38,4	±	2,5	47,8	±	1,1**	47,1	±	1,4**
Общее N входов/выходов	aaa	23,6	±	3,4	10,1	±	2,1**	10,7	±	2,0**
Выглядывания, N		4,7	±	0,6	3,8	±	0,8	4,9	±	0,8
Заглядывания, N	aaa	6,5	±	1,2	0,8	±	0,3***	1,2	±	0,5***
Переходы, N	a	5,5	±	1,1	2,2	±	0,9*	2,8	±	0,8
Вставания на задние лапы, N	aaa	15,6	±	1,7	8,9	±	2,0*	4,3	±	1,0***+
тест Порсолта										
Латентное время неподвижности		182,5	±	13,6	137,2	±	11,1*	155,8	±	17,1
Активное плавание		193,4	±	12,1	189,8	±	10,5	180,1	±	14,4
Пассивное плавание		105,9	±	12,2	110,2	±	10,5	119,5	±	14,4
Число мышей в группе		15			13			14		

Примечание: a — $p < 0,05$, aa — $p < 0,01$, aaa — $p < 0,001$ — влияние фактора «группа», однофакторный дисперсионный анализ; * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ по сравнению с контролем, + — $p < 0,05$, +++ — $p < 0,001$ по сравнению с введением мышам физиологического раствора, t-критерий.

Таблица 2

Эффект кломипрамина (40 мг/кг) на поведение тревожно-депрессивных самцов мышей в тесте приподнятого крестообразного лабиринта

2672

Поведенческие параметры	Контроль			Тревожно-депрессивные мыши						
				физиологический раствор			кломипрамин			
Открытые рукава, с (%)	5,5	±	3,0	0,8	±	0,4	0,2	±	0,2	
Открытые рукава, N (%)	6,8	±	2,0	4,1	±	1,9	1,5	±	1,5*	
Центр, с (%)	a	15,1	±	2,4	12,9	±	2,6	7,2	±	1,7*
Центр, N (%)		47,4	±	0,7	44,5	±	1,0*	39,4	±	4,3*
Закрытые рукава, с (%)	a	79,3	±	4,7	86,3	±	2,6	92,6	±	1,7*+
Закрытые рукава, N (%)	a	45,8	±	2,3	51,4	±	2,0	59,0	±	4,9*
Общее N входов/выходов	aaa	17,0	±	2,6	10,9	±	1,3 *	5,6	±	0,9***+++
Выглядывания из рукавов, N		6,4	±	0,9	6,7	±	1,1	5,4	±	1,2
Заглядывания, N	a	4,7	±	1,2	2,2	±	0,6	1,3	±	0,4*
Переходы, N	aa	4,2	±	0,9	2,0	±	0,6	1,2	±	0,3**
Вставания на задние лапы, N	aaa	16,4	±	2,2	10,9	±	1,1*	4,2	±	1,1***+++
Число мышей в группе		11			10			11		

Примечание: а — $p < 0,05$, aa — $p < 0,01$, aaa — $p < 0,001$ — влияние фактора «группа», однофакторный дисперсионный анализ; * - $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ по сравнению с контролем, + — $p < 0,05$, +++ — $p < 0,001$ по сравнению с введением кломипрамина, t-критерий.

наблюдались практически по всем показателям теста (за исключением числа выглядываний и % времени пребывания в открытых рукавах). Значимые различия между группами тревожно-депрессивных особей, которым вводили физиологический раствор и кломипрамин, были отмечены по % времени пребывания в закрытых рукавах, общему числу входов/выходов и вставаний на задние лапы (табл. 2)

У животных с введением кломипрамина в дозе 20 мг/кг ANOVA выявил достоверное влияние фактора «группа» для параметров: % числа выходов в открытые рукава ($F(2,32) = 10,32$; $p < 0,0003$),

в закрытые рукава ($F(2,32) = 8,82$; $p < 0,001$); % времени пребывания в центре ($F(2,32) = 7,31$; $p < 0,002$), закрытых ($F(2,32) = 15,22$; $p < 0,0001$), открытых ($F(2,32) = 13,81$; $p < 0,0001$) рукавах, общего числа входов/выходов в рукава ($F(2,32) = 9,04$; $p < 0,001$); числа заглядываний под лабиринт ($F(2,32) = 18,46$; $p < 0,0001$), вставаний на задние лапы ($F(2,32) = 12,2$; $p < 0,0001$), переходов из одного закрытого рукава в другой ($F(2,32) = 3,03$; $p \leq 0,05$).

Сравнение показателей теста между группами контрольных животных и тревожно-депрессивных самцов, которым вводили физиологический раствор,

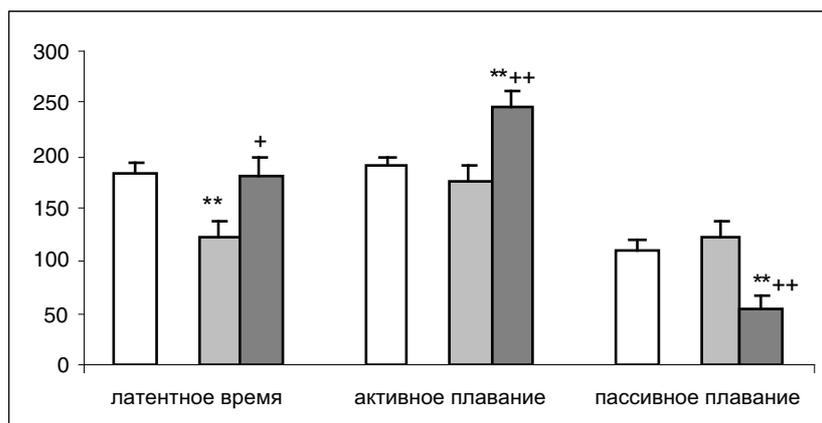


Рис. 2

Влияние кломипрамина (40 мг/кг) на поведение тревожно-депрессивных самцов в тесте Порсолта

Белые столбцы — контроль, серые столбцы — мыши с введением физиологического раствора, темные столбцы — мыши с введением кломипрамина. * — $p < 0,05$, *** — $p < 0,001$ по сравнению с контролем; + — $p < 0,05$, ++ — $p < 0,01$ по сравнению с введением физиологического раствора, t-критерий.

установило различия практически по всем показателям теста за исключением % числа выходов в центр и выглядываний из закрытых рукавов. Кломипрамин в дозе 20 мг/кг не повлиял на эти изменения: группы животных с введением физиологического раствора и препарата между собой достоверно не отличались по всем параметрам, за исключением числа вставаний на задние лапы (табл. 1).

Таким образом, как и ранее [34], в период относительного отдыха, в течение которого агонистические взаимодействия были прекращены, сформированный повышенный уровень тревожности не снизился до контрольного уровня (интактного состояния). Кломипрамин в дозе 40 мг/кг усилил в некоторой степени состояние тревожности, оказав анксиогенный эффект, оцениваемый по увеличению % времени, проводимом в закрытых рукавах, а в дозе 20 мг/кг практически не оказал никакого действия на уровень тревожности по сравнению с таковым у животных, которым вводили физиологический раствор.

Влияние кломипрамина на поведение тревожно-депрессивных самцов мышей в тесте Порсолта

ANOVA выявил достоверное влияние фактора «группа» при введении кломипрамина в дозе 40 мг/кг для параметров: латентное время демонстрации пер-

вой иммобильности (неподвижности) ($F(2,31) = 5,06$; $p < 0,013$), активное плавание ($F(2,31) = 7,90$; $p < 0,002$) и пассивное плавание ($F(2,31) = 7,82$; $p < 0,002$). По сравнению с контролем у тревожно-депрессивных животных, которым вводили физиологический раствор, латентное время демонстрации полной неподвижности было существенно ниже ($p < 0,006$) (рис. 2). При этом латентное время у «кломипраминовых» самцов стало существенно выше по сравнению с группой, получавшей физиологический раствор ($p < 0,021$). Под влиянием кломипрамина произошло увеличение времени активного плавания как по отношению к животным, которым вводили физиологический раствор ($p < 0,003$), так и по отношению к контролю ($p < 0,003$). Аналогичное сравнение выявило снижение времени пассивного плавания под действием кломипрамина (для обоих $p < 0,003$).

ANOVA выявил влияние фактора «группа» (табл. 1) при введении дозы 20 мг/кг на уровне тенденции ($F(2,39) = 2,56$; $p < 0,09$) на латентное время демонстрации первой неподвижности. У тревожно-депрессивных животных с введением физиологического раствора оно было ниже, чем у контроля ($p < 0,018$).

Таким образом, период относительного отдыха, в течение которого агонистические взаимодействия были прекращены, не привел к снижению депрессивности, оцениваемой латентным временем демонстрации первой неподвижности, однако общее вре-

мя пассивного плавания уже не отличалось от такового у контрольных мышей. Кломипрамин в дозе 40 мг/кг оказал выраженный антидепрессивный эффект, оцениваемый по снижению общего времени пассивного плавания, который, судя по увеличению времени активного плавания, мог быть обусловлен стимулирующим эффектом препарата. Кломипрамин в дозе 20 мг/кг не имел эффекта на параметры поведения в тесте Порсолта, однако несколько увеличил время демонстрации первой неподвижности так, что оно уже не отличалось достоверно от такового у контрольных животных.

Следует отметить, что несмотря на то, что используемая нами доза препарата 40 мг/кг была не столь большой, по сравнению с используемыми в литературе в других исследованиях [28], в нашем эксперименте хроническое введение кломипрамина в этой дозе сопровождалось проявлением побочных эффектов, описанных для этого препарата [25]. В частности, мыши демонстрировали двигательное беспокойство (трудно взять в руки), некоторые особи часто демонстрировали аутогруминг (умывание, чесание), неврологические симптомы типа атаксии (сидели в углу, подволакивали лапы), соматические симптомы (отсутствовала прибавка в весе, характерная для животных, которым вводили физиологический раствор, у некоторых особей наблюдалось частичное выпадение шерсти).

ОБЩЕЕ ОБСУЖДЕНИЕ

В наших экспериментах были подтверждены полученные ранее данные [34] о том, что период относительного отдыха после прекращения агонистических взаимодействий в течение 2 недель не приводит к восстановлению параметров поведения в тестах, оценивающих уровень тревожности. Это было показано в обоих экспериментах. Коммуникативность у мышей в реакции на знакомого партнера (агрессора) в тесте «перегородка» была все еще сниженной, несколько увеличиваясь в реакции на незнакомого группового партнера, тем не менее, не достигая значений у контрольных животных. Уровень тревожности все еще оставался более высоким в тесте приподнятого крестообразного лабиринта и была снижена двигательная (общее число входов/выходов) и исследовательская активность (число вставаний на задние лапы). Уровень депрессивности, оцениваемый латентным временем демонстрации полной неподвижности (зависания) в тесте Порсолта, по-прежнему был ниже, чем у контроля, то есть депрессивные мыши раньше впадали в отчаяние и пре-

крашали искать выход из ситуации. Эти данные свидетельствуют о том, что сформированное тревожно-депрессивное расстройство не проходит само по себе в течение 2-х недель и нуждается в фармакологической коррекции. Хотя нужно отметить, что другой параметр, общее время пассивного плавания, по которому оценивают, в основном, уровень депрессивности животных, не отличался от контрольного уровня несмотря даже на дополнительное, казалось бы, стрессирующее воздействие — хроническое введение физиологического раствора. Это может свидетельствовать о некотором снижении уровня депрессивности за период относительного отдыха.

Хронически вводимый кломипрамин в дозе 40 мг/кг еще больше снизил коммуникативность, оцениваемую тестом «перегородка», и усилил состояние тревожности в тесте приподнятого крестообразного лабиринта, оцениваемое практически всеми параметрами, а также снизил двигательную и исследовательскую активность еще больше. Однако в тесте Порсолта кломипрамин оказал антидепрессивный эффект, оцениваемый увеличением латентного времени полной неподвижности и снижением суммарного времени пассивного плавания. Значительное увеличение времени активного плавания под влиянием кломипрамина может свидетельствовать о стимулирующем эффекте кломипрамина, поскольку значения этого параметра были выше даже по сравнению с контролем (интактным состоянием). В терминах описания наблюдаемого действия препарата, можно сказать, что кломипрамин оказал анксиогенный эффект и в то же время антидепрессивный эффект.

Ранее нами было показано, что тревожно-депрессивное состояние, формируемое у самцов мышей под влиянием хронического социального стресса, вызванного повторным опытом социальных поражений [8, 9], сопровождается изменением моноаминергической активности в мозге [обзор, 10]: на поздних стадиях расстройства происходит снижение функциональной активности серотонергической и дофаминергических систем мозга. Можно полагать, что суммарный эффект от активации серотонергической системы, вызванный кломипраминам, который блокирует обратный захват медиатора, проявляется в анксиогенном эффекте препарата, по-видимому, в качестве его побочного действия. Суммарный эффект от активации дофаминергических и норадренергических систем проявляется в антидепрессивном эффекте препарата с выраженным стимулирующим действием. В рамках нашего исследования можно также думать, что в моделируемом нами психоэмоциональном расстройстве

у самцов мышей высокий уровень тревожности и депрессивности находится под разным контролем моноаминергических систем.

Кломипрамин в дозе 20 мг/кг оказал сходный с эффектом большой дозы некоторый антидепрессивный эффект, о чем свидетельствует увеличение первой демонстрации неподвижности, но при этом не оказал влияния на состояние тревожности, высокий уровень которой развился на фоне социального стресса. Другими словами, кломипрамин не оказал анксиогенного, антикоммуникативного и стимулирующего эффекта при хроническом введении в дозе 20 мг/кг, но при этом и не снизил уровень тревожности, который был сформирован до периода лечения препаратом. Эти данные также подтверждают предположение о независимости формирования тревожности и депрессии в используемой нами поведенческой парадигме и свидетельствуют о формировании скорее смешанного тревожно-депрессивного расстройства, чем тревожной депрессии у животных.

Очевидно также другое, что кломипрамин с большой осторожностью может быть рекомендован как препарат монотерапии при тревожно-депрессивных расстройствах. Более того, можно думать, что он может быть противопоказан при лечении депрессии, сопровождающейся состоянием выраженной тревоги у пациентов, поскольку не снижает уровня тревожности и может даже вызвать анксиогенный эффект. Так как тревожность у самцов мышей начинает формироваться уже в самом начале психотравмирующего воздействия [10], проявляется в течение всего периода формирования болезни и длительно сохраняется после прекращения стресса, даже при проживании в комфортных условиях [34], можно думать, что при лечении тревожно-депрессивных расстройств внимание, прежде всего, должно быть обращено на снижение состояния тревоги. Можно предположить, что сформированный уровень тревожности, который не исчезает при прекращении психотравмирующего воздействия и плохо поддается лечению классическими антидепрессантами, может быть причиной рецидивов депрессии.

Для подтверждения этих предположений необходимы дополнительные эксперименты с применением препаратов другого спектра действия с прицельным влиянием на специфические нейромедиаторные системы тревожности, но не затрагивающие, по крайней мере, напрямую, моноаминергические механизмы.

Исследование проведено при поддержке программой РАН «Фундаментальные науки — медицине» (рук. акад. А.И. Григорьев) — А.П.5,14.

ЛИТЕРАТУРА

1. Clayton P.J., Grove W.M., Coryell W., Keller M., Hirschfeld R., Fawcett J. Follow-up and family study of anxious depression. *Am J Psychiatry*. 1991; 148(11): 1512–1517.
2. Preskorn S.H., Fast G.A. Beyond signs and symptoms: the case against a mixed anxiety and depression category. *J Clin Psychiatry*. 1993; 54(Suppl): 24–32.
3. Levine J., Cole D.P., Chengappa K.N., Gershon S. Anxiety disorders and major depression, together or apart. *Depress Anxiety*. 2001; 14(2): 94–104.
4. Boulenger J.P., Lavalley Y.J. Mixed anxiety and depression: diagnostic issues. *J Clin Psychiatry*. 1993; 54(Suppl): 3–8.
5. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition, Text Revision. (DSM-IV-TR). American Psychiatric Association: Washington D.C., 2000. 955 p.
6. Stahl S.M. Mixed anxiety and depression: clinical implications. *J Clin Psychiatry*. 1993; 54(Suppl): 33–38.
7. Silverstone P.H., von Studnitz E. Defining anxious depression: going beyond comorbidity. *Can J Psychiatry*. 2003; 48(10): 675–680.
8. Kudryavtseva N.N., Bakshtanovskaya I.V., Koryakina L.A. Social model of depression in mice of C57BL/6J strain. *Pharmacol Biochem Behav*. 1991; 38(2): 315–320.
9. Kudryavtseva N.N., Avgustinovich D.F. Behavioral and physiological markers of experimental depression induced by social conflicts (DISC). *Aggress Behav*. 1998; 24: 271–286.
10. Августинович Д.Ф., Алексеенко О.В., Бакштановская И.В., Корякина Л.А., Липина Т.В., Тендитник М.В., Бондарь Н.П., Коваленко И.Л., Кудрявцева Н.Н. Динамические изменения серотонергической и дофаминергической активности мозга в процессе развития тревожной депрессии: экспериментальное исследование. *Усп физиол наук*. 2004; 35(4): 19–40.
11. Kudryavtseva N.N., Madorskaya I.A., Bakshtanovskaya I.V. Social success and voluntary ethanol consumption in mice of C57BL/6J and CBA/Lac strains. *Physiol Behav*. 1991; 50(1): 143–146.
12. Avgustinovich D.F., Alekseyenko O.V., Koryakina L.A. Effects of chronic treatment with ipsapirone and buspirone on the C57BL/6J strain mice under social stress. *Life Sci*. 2003; 72(13): 1437–1444.
13. Kudryavtseva N.N., Avgustinovich D.F., Bondar N.P., Tenditnik M.V., Kovalenko I.L. An experimental approach for the study of psychotropic drug effects under simulated clinical conditions. *Curr Drug Metab*. 2008; 9(4): 352–360.
14. Бородин Ю.И., Рачковская Л.Н. Пористые сорбенты на основе оксида алюминия — Ноолит. Пат. РФ № 2142846, 2000.
15. Borodin J.I., Kudryavtseva N.N., Tenditnik M.V., Rachkovskaya L.N., Shurlygina A.V., Trufakin V.A. Behavioral effects of novel enterosorbent Noolit on mice with mixed depression/anxiety-like state. *Pharmacol Biochem Behav*. 2002; 72(1–2): 131–141.
16. Gordon J.A., Hen R. The serotonergic system and anxiety. *Neuromolecular Med*. 2004; 5(1): 27–40.
17. Graeff F.G., Viana M.B., Mora P.O. Dual role of 5-HT in defense and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev*. 1997; 21(6): 791–799.
18. Cowen P.J. Serotonin and depression: pathophysiological mechanism or marketing myth? *Trends Pharmacol Sci*. 2008; 29(9): 433–436.
19. Leonard B.E. Psychopathology of depression. *Drugs Today (Barc)*. 2007; 43(10): 705–716.

20. Dailly E., Chenu F., Renard C.E., Bourin M. Dopamine, depression and antidepressants. *Fundam Clin Pharmacol.* 2004; 18(6): 601–607.
21. Saxon A.J. Dopamine and depression. *Arch Gen Psychiatry.* 2007; 64(9): 1101.
22. Willner P. Dopamine and depression: a review of recent evidence. I. Empirical studies. *Brain Res.* 1983; 287(3): 211–224.
23. Fibiger H.C. Neurobiology of depression: focus on dopamine. In: Gessa G., Fratta W., Pani L., Serra G. (eds). *Depression and Mania: From Neurobiology to Treatment.* Raven Press: N.Y., 1995. P. 1–17.
24. Fawcett J., Scheftner W.A., Fogg L., Clark D.C., Young M.A., Hedeker D., Gibbons R. Time-related predictors of suicide in major affective disorder. *Am J Psychiatry.* 1990; 147(9): 1189–1194.
25. Машковский М.Д. Лекарственные средства. М., 2008. 1216 с.
26. Kudryavtseva N.N. Sensory contact model: protocol, control, applications. Nova Science Publishers Inc: New York, 2010. 38 p.
27. Nelson J.C. Tricyclic and tetracyclic drug. In: Schatzberg A.F., Nemeroff CB (eds). *Essentials of clinical psychopharmacology.* American Psychiatric Publishing, Inc.: Washington D.C., 2006. P. 5–30.
28. Drago F., Arezzi A., Virzi A. Effects of acute or chronic administration of substituted benzamides in experimental models of depression in rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2000; 10(6): 437–442.
29. Micale V., Scapagnini G., Colombrina C., Mazzola C., Alkon D.L., Drago F. Behavioral effects of dietary cholesterol in rats tested in experimental models of mild stress and cognition tasks. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2008; 18(6): 462–471.
30. Ventura R., Cabib S., Puglisi-Allegra S. Genetic susceptibility of mesocortical dopamine to stress determines liability to inhibition of mesoaccumbens dopamine and to behavioral “despair” in a mouse model of depression. *Neuroscience.* 2002; 115(4): 999–1007.
31. Kudryavtseva N.N. Experience of defeats decreases the behavioral reactivity to conspecific in partition test. *Behav Proces.* 1994; 32: 297–304.
32. Lister R.G. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl).* 1987; 92(2): 180–185.

33. Porsolt R.D., Le Pichon M., Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature.* 1977; 266(5604): 730–732.

34. Августинович Д.Ф., Коваленко И.Л., Кудрявцева Н.Н. Модель тревожной депрессии: персистентность патологии поведения. *Росс физиол журн им И.М. Сеченова.* 2004; 90(10): 1235–1244.

Smagin DA, Galyamina AG, Bondar NP, Kudryavtseva NN. [Effects of clomipramine on mixed anxiety/depression state produced by chronic social defeat stress in male mice]. *Psychopharmacol Biol Narcol.* 2011; 11(1–2): 2666–2676. Epub 14 June 2011. Russian

Institute of Cytology and Genetics SD RAS, Neurogenetics of Social Behavior Sector; 10, Acad. Lavrentiev Ave., Novosibirsk, 630090, Russia, Tel.: +7 383-363-49-65

CITATION: PSYCHOPHARMACOL BIOL NARCOL. 2011; 11(1–2): 2666–2676. EPUB 2011 JUN 14. RUSSIAN

ABSTRACT

BACKGROUND. Chronic social defeat stress in daily agonistic interactions leads to development of mixed anxiety/depression state in male mice. Paper aimed to study effects of clomipramine on psychoemotional state in these animals with point on level of anxiety and depression.

METHODS. Mixed anxiety/depression state was produced by chronic social defeat stress during 20 days in male mice. Clomipramine (20, 40 mg/kg, i/p., SIGMA) and saline were chronically injected to chronically defeated mice during 2 weeks without agonistic interactions. After resting period the male mice were investigated in the partition, plus-maze and Porsolt' tests.

RESULTS. Clomipramine in dose 40 mg/kg decreased communicativeness in the partition test, produced anxiogenic effects and decreased exploratory activity in the plus-maze test and had antidepressive effect in the Porsolt' test. Clomipramine in dose 20 mg/kg had weak antidepressant effect and did not affect enhanced level of anxiety.

CONCLUSION. Clomipramine produces anxiogenic and antidepressant effects on mixed anxiety/depression state in male mice. It is supposed, that clomipramine, at least in dose of 40 mg/kg, may independently influence on anxiety and depression states.

KEY WORDS: Chronic social defeat stress; Mixed anxiety-depression state; Clomipramine