

# Экспериментальная оценка влияния различных моделей депривации сна у крыс на выполнение когнитивных тестов

Д.К. Глинко\*, Н.Г. Венгерович, А.С. Никифоров, О.И. Алешина, М.С. Вахвияйнен

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины»  
Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

\* E-mail: [gniiivm\\_5@mil.ru](mailto:gniiivm_5@mil.ru)

**Резюме.** В современном мире остро стоит проблема дефицита сна и вызванных этим обстоятельством нарушений функционального состояния организма. Наиболее актуальна эта проблема касается тех областей, где профессиональная деятельность характеризуется высокой напряженностью с интенсивными умственными и физическими нагрузками, а также требует высокой концентрации внимания на протяжении длительного времени. Для поддержания оптимальной работоспособности и профилактики негативных последствий интенсивных нагрузок необходимо проведение адекватной фармакологической коррекции состояний, вызванных недостатком сна и прочими неблагоприятными факторами труда. В связи с этим актуальным остается вопрос о подборе релевантных моделей формирования у экспериментальных животных умственного и физического утомления, а также выбора протокола доклинического исследования средств фармакологической коррекции данных состояний.

В работе проведена экспериментальная оценка влияния различных вариантов формирования у крыс депривации сна (методика «сетка над водой» и методика с принудительной локомоторной активностью в колесах с принудительным ходом) на когнитивные и поведенческие показатели животных в тестах открытое поле, актометр, условный рефлекс пассивного избегания и эмоциональный интеллект.

Установлено, что депривация сна у крыс в колесах принудительной локомоции наиболее приближена к моделированию деятельности, связанной с истощающей физической нагрузкой, психоэмоциональным стрессом и отсутствием сна, это определяет наибольшую адекватность применения такого способа для исследования препаратов стимулирующего типа действия и анксиолитиков или комбинации психостимуляторов и транквилизаторов.

Вместе с тем депривация сна у крыс в установке «сетка над водой», пригодна для воспроизведения простых по структуре астенических нарушений, а также последствия стрессогенных ситуаций и утомления, развивающихся у практически здоровых лиц при чрезмерных психоэмоциональных нагрузках. Указанные модели целесообразно применять при исследовании эффективности эугериков, ноотропов и препаратов, повышающих умственную работоспособность.

**Ключевые слова:** депривация сна, умственное утомление, снижение когнитивных показателей у крыс

**Благодарности.** Работа выполнена без спонсорской поддержки.

**Для цитирования:** Глинко Д.К., Венгерович Н.Г., Никифоров А.С., Алешина О.И., Вахвияйнен М.С. Экспериментальная оценка влияния различных моделей депривации сна у крыс на выполнение когнитивных тестов. Лабораторные животные для научных исследований. 2024; 2. 36–47. <https://doi.org/10.57034/2618723X-2024-02-03>.

# Experimental evaluation of various models of sleep deprivation in rats for performing cognitive tests

D.K. Glinko\*, N.G. Vengerovich, A.S. Nikiforov, O.I. Aleshina, M.S. Vakhviyainen

State Research and Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia

\*E-mail: gniiivm\_5@mil.ru

**Abstract.** In the modern world the problem of lack of sleep and resulting disorders of the functional state of an organism is of a great topicality. This problem is most urgent in those areas where professional activity is characterized by a high intensity with high mental and physical exertion, and also requires high concentration of attention for a long time. To maintain optimal performance and prevent the negative effects of intense stress, it is necessary to carry out an adequate pharmacological correction of conditions, caused by lack of sleep and other adverse labor factors. In this regard, the question of the selection of relevant models for the formation of mental and physical fatigue in experimental animals and the selection of a protocol for preclinical research of pharmacological correction of these conditions remains relevant.

The present study contains an experimental assessment of various variants of the formation of sleep deprivation in rats in a gentle version using the “grid over water” technique and a technique accompanied by forced locomotor activity in “wheels with forced running” on the effect on cognitive and behavioral indicators of animals in the open field tests, an actometer, methods of conditioned reflex passive avoidance and an emotional intelligence test.

It has been established that the method of forced locomotion in wheels is the closest to modeling activities accompanied by debilitating physical exertion, psychoemotional stress and lack of sleep, which determines the greatest adequacy of the use of these techniques for the study of a stimulating type of action and anxiolytics or a combination of psychostimulants and tranquilizers.

Sleep deprivation models in the “grid over water” installation are suitable for reproducing simple asthenic disorders in structure, as well as the consequences of stressful situations and fatigue developing in practically healthy individuals with excessive psycho-emotional stress. It is advisable to use these models in the study of the effectiveness of eugenerics, nootropics and drugs that increase mental performance.

**Keywords:** sleep deprivation, mental fatigue, cognitive decline in rats

**Acknowledgements.** The study was performed without external funding.

**For citation:** Glinko D.K., Vengerovich N.G., Nikiforov A.S., Aleshina O.I., Vakhviyainen M.S. Experimental evaluation of various models of sleep deprivation in rats for performing cognitive tests. *Laboratory Animals for Science*. 2024; 2. 36–47. <https://doi.org/10.57034/2618723X-2024-02-03>.

## Введение

Дефицит сна негативно сказывается на функциональном состоянии организма и психосоматическом здоровье человека. Суточная депривация сна у человека приводит к развитию хронического стресса, который сопровождается повышением сонливости, раздражительностью, снижением концентрации внимания и обучаемости, нарушением координации, а также повышением концентрации кортизола. Вместе с тем профессиональная деятельность, сопряженная с высокой напряженностью, характеризуется интенсивными умственными и физическими нагрузками, требует высокой концентрации внимания на протяжении длительного времени. Наиболее актуальна эта проблема для сотрудников, профессия которых связана с работой без ограничения продолжительности служебного времени (ненормиро-

ванный трудовой день): работа при экстремальных внешних воздействиях, ликвидация последствий чрезвычайных ситуаций, напряженная операторская деятельность в условиях ограничения сна. Как правило, это приводит к быстрому развитию утомления, ухудшению работоспособности и снижению профессиональных навыков специалистов [1].

Механизмы прогнозируемого снижения когнитивных способностей при умственном и физическом утомлении недостаточно изучены. Однократный умеренный стресс обладает активирующим действием на когнитивные и физические способности, а хронический стресс приводит к развитию депрессии и неврозов, профессиональному выгоранию и ухудшению качества жизни. В связи с этим экспериментальное изучение сочетанного влияния недостатка сна и неблагоприятных факторов труда на стресс-реализующие и стресс-

лимитирующие системы организма актуально, поскольку эти системы не только активируются при воздействии экстремальных факторов, но и меняют свою реактивность при действии различных средств фармакологической коррекции. Кроме того, остро стоит вопрос о выборе не только релевантных методик оценки эффективности фармакологических средств, но и адекватных методик моделирования недостатка сна и связанных с ним нарушений функциональных состояний.

Для проведения доклинической оценки эффективности новых средств, предназначенных для фармакологической коррекции функционального состояния организма, необходимо сформировать у лабораторных животных адекватную модель умственной и физической усталости.

Цель исследования — экспериментальная оценка различных моделей умственной и физической усталости на основе депривации сна по изменению когнитивных показателей у крыс.

Задачи исследования.

1. Моделирование депривации сна у крыс различной степени напряженности.
2. Оценка когнитивных способностей и поведения депривированных крыс в тестах открытое поле, актометр, условный рефлекс пассивного избегания и эмоциональный интеллект.
3. Обоснование модели депривации сна для решения экспериментальных задач.

## Состояние проблемы

Различные варианты фармакологической коррекции функционального состояния организма являются эффективным способом экстренного повышения умственной или физической работоспособности человека в условиях, сопряженных с риском для жизни [2–4].

В настоящее время психостимуляторы используют в разных областях профессиональной деятельности, где требуется длительное и непрерывное поддержание работоспособности на высоком уровне [5]. К фармакологическим средствам, предназначенным для экстренного кратковременного повышения умственной (операторской) и физической работоспособности, предъявляют следующие требования: в условиях предельных нагрузок и вынужденной бессонницы они должны активировать профессиональную деятельность, увеличивать силовые и скоростные качества, объем работы, повышать психический тонус, мотивацию, настроение, уверенность в себе, снимать чувство усталости. При этом допустимо усиление эмоционального возбуждения,

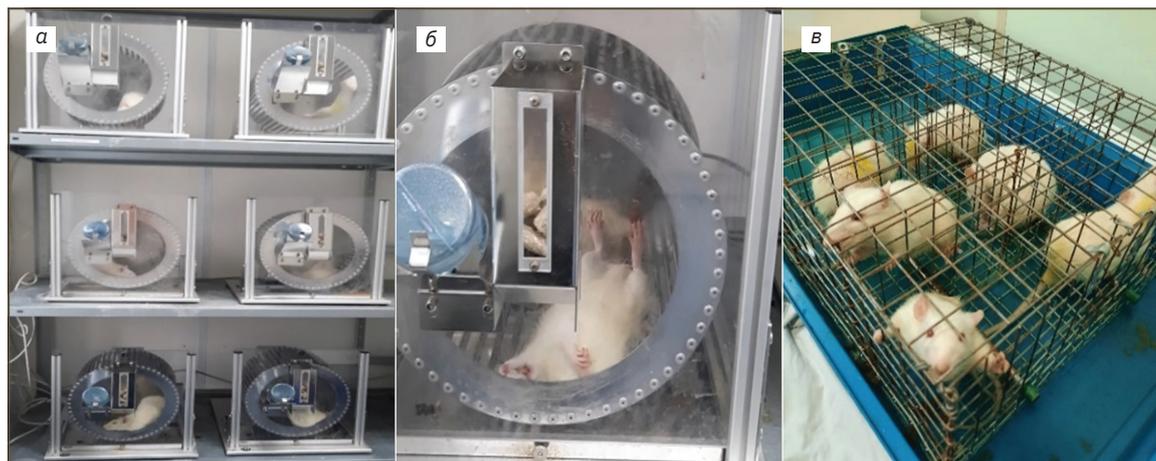
снижение потребности в сне, затруднение засыпания, а также легкое эйфоризирующее действие [6].

Первые экспериментальные модели депривации сна были разработаны для собак еще в конце XIX века, в последующем собаку в качестве животной модели для депривации сна заменили кошки, а затем и грызуны. При этом крысы в настоящее время считаются наиболее предпочтительным биообъектом для моделирования депривации сна. Экспериментальная депривация сна вызывает снижение объема выполненных когнитивных задач различного уровня. При этом дефицит сна можно измерить батареей поведенческих тестов, что имеет практическое значение для выбора протокола доклинических исследований препаратов, предназначенных для улучшения когнитивных функций. Существуют различные подходы к созданию депривации сна, например, полное или частичное ограничение сна на протяжении длительного периода времени, лишение фазы быстрого сна либо нарушение циркадных ритмов животного [7].

К наиболее мягким вариантам полного лишения сна можно отнести «бережную стимуляцию» (gentle handling), которая основана на взаимодействии экспериментатора с животным во избежание засыпания либо стимуляции исследовательской деятельности животных путем обогащения среды [8]. Процедура направлена на минимизацию стресса и вынужденной двигательной активности, которые присутствуют в других методах. К щадящим методам также можно отнести подавление парадоксальной фазы сна (стресс Жуве), когда сон животного прерывается падением в воду при мышечном расслаблении при достижении им фазы быстрого сна (сон с быстрым движением глаз REM-сон) [9]. Выбор частоты и интенсивности стимуляций зависит от продолжительности депривации<sup>1</sup>. При мягких вариантах депривации легко поддерживать бодрствование крыс в течение 5–6 ч. Для более длительной депривации лучше использовать автоматизированные варианты, при которых возможность сна полностью исключается. К ним относятся: принудительная локомоция (forced activity), «диск над водой» (disk over water), «чередующиеся платформы» (alternating platform) [10].

К преимуществам автоматизированных устройств депривации сна можно отнести факт того, что с их помощью можно создать одинаковые условия для группы животных. Как правило, подобные варианты депривации сна сопровождаются интенсивной вынужденной двигательной активностью, которая приводит к затруднению получения истинных

<sup>1</sup> Ковальзон В.М. Основы сомнологии: физиология и нейрохимия цикла «сон-бодрствование». Учебное пособие. Москва: Лаборатория знаний, 2017. 274 с. [Koval'zon V.M. Osnovy somnologii: fiziologiya i neirokhimiya tsikla "son-bodrstvovanie". Uchebnoe posobie. Moskva: Laboratoriya znaniy, 2017. 274 p. (In Russ.)].



**Рис. 1.** Установки для депривации сна: а — общий вид установки принудительной локомоции; б — отказ животного от движения; в — общий вид установки «сетка над водой»

результатов в тестах на оценку когнитивных функций на фоне двигательной мотивации. С физиологической точки зрения такой стресс, помимо активации гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси, будет сопровождаться угнетением коры головного мозга и лимбической системы, которые оказывают тормозящее влияние на гипоталамус у крыс.

Как и в любом исследовании, важное значение имеет корректный перенос на человека результатов нарушения когнитивных способностей. Несмотря на физиологическую потребность всех млекопитающих во сне, нарушения познания высокого уровня у человека недоступны для моделирования на животных из-за внутренних различий между циклами сна и бодрствования и отсутствия инструментальных методов измерения когнитивных функций, не основанных на двигательной мотивации. Тем не менее с помощью выбора адекватной модели депривации сна и последующей поведенческой или когнитивной оценки, а также детальной интерпретацией результатов можно получить значимую информацию при изучении лекарственных средств, повышающих умственную или физическую работоспособность.

## Материал и методы

**Животные.** Исследование было одобрено биоэтической комиссией ФГБУ «ГНИИИ ВМ» МО РФ протокол № 11 от 23 сентября 2022 г.

Эксперименты выполняли на 160 белых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г, возраст 6–8 нед, полученных из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово»» (Ле-

нинградская обл.). Животных содержали в одинаковых стандартных условиях вивария в пластиковых сетках на опилочном подстилке при групповом размещении по 6 животных со свободным доступом к еде и воде. Площадь пола на одно животное соответствовала регламентирующим стандартам. В качестве корма использовали полнорационный комбикорм ЛБК-120 по ГОСТу Р 50258–92. В помещении поддерживали цикл день/ночь, температура воздуха составляла  $20 \pm 2$  °С, влажность — 60–80%. Все эксперименты на животных проводили в соответствии с Правилами надлежащей лабораторной практики<sup>3</sup>. Наблюдение за животными экспериментальных групп проводили в течение 14 сут. Эвтаназию в конце исследования не проводили.

Исследование выполняли в несколько этапов. На первом этапе крыс подвергали различным режимам депривации сна для моделирования умственной усталости и сочетанного умственного и физического утомления. На втором этапе определяли влияние депривационных моделей на когнитивные и поведенческие показатели в тесте открытое поле, актометр, условный рефлекс пассивного избегания и эмоциональный интеллект.

Общий вид установок депривации сна представлен на рис. 1.

### Методика депривации сна за счет принудительной локомоции на приборе «Forced Running Wheels»

Данная методика была выбрана в качестве модели депривации сна, которая наиболее приближена к моделированию деятельности

<sup>2</sup> Западнюк И.П., Западнюк Б.В., Западнюк В.И. и др. Лабораторные животные. Разведение, содержание, использование в эксперименте. Учебное пособие, 3-е изд., перераб. и доп. Киев: Вища школа, 1983. 383 с. [Zapadnyuk I.P., Zapadnyuk B.V., Zapadnyuk V.I. et al. *Laboratory animals. Breeding, housing, use in experiments. A textbook, 3rd ed., revised and supplemented.* Kiev: Vishcha shkola, 1983. 383 p. (In Russ.).]

<sup>3</sup> Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств». [Reshenie Soveta Evraziiskoi ekonomicheskoi komissii ot 03.11.2016 N. 81 "Ob utverzhdenii Pravil nadlezhashchei laboratornoi praktiki Evraziiskogo ekonomicheskogo soyuza v sfere obrashcheniya lekarstvennykh sredstv". (In Russ.).]

человека, сопровождающейся отсутствием сна, истощающей физической нагрузкой и тяжелым психоэмоциональным стрессом. В качестве технического средства автоматизации эксперимента использовали установку «Forced Running Wheels 303400 series» (TSE-Systems GmbH<sup>4</sup>, Германия), состоящую из 8 колес диаметром 25 см и блока управления, позволяющего задавать время, частоту [от 1 до 13 оборотов в минуту (об/мин)] и направление (по часовой или против часовой стрелки) вращения. В установке имеется свободный доступ к корму и воде, а также предусмотрена возможность изменения количества стальных прутьев (максимально 56 штук через каждые 1,5 см), соединяющих окружности колеса, по которым грызуны совершают движение по направлению вращения. Уменьшение количества прутьев в колесе влияет на координацию животных и препятствует их отдыху.

В соответствии с методикой крыс помещали в колеса с электромеханическим приводом, которые, вращаясь, заставляли животных выполнять непрерывную механическую работу, тем самым препятствуя их засыпанию на протяжении заданного времени. Воздействие на животных осуществляли в режиме 12-, 24-часовой депривации сна, частота вращения колес 3 об/мин. Колеса вращаются против часовой стрелки. Доступ к корму и воде во время локомоторной активности свободный. Количество стальных прутьев в колесе 56 (максимальное). На протяжении всего времени депривации использовали постоянное искусственное освещение без деления на день/ночь. Для контроля использовали интактных крыс, находившихся в колесах, но без принудительной локомоции и депривации сна.

#### Методика депривации сна на установке типа «сетка над водой»

Данная модель позволяет воспроизводить депривацию сна как по типу щадящей принудительной локомоции, так и подавления фаз сна (стресс Жуве) [11, 12]. Установка представляет собой прямоугольный бассейн (длина 100 см, ширина 60 см, высота 20 см), наполовину заполненный теплой водой ( $24 \pm 1$  °C). В бассейн помещается металлическая сетка (длина 80 см, ширина 40 см, высота 30 см), разделенная на 20 ячеек (длина 20 см, ширина 8 см). На высоте 12 см от дна бассейна через всю клетку проходит металлическая переключательная, на которую помещают экспериментальных животных [13].

В соответствии с методикой падение лабораторных животных в воду или намочание шерсти приводит к потребности выполнения

груминга и поиска способа удержания на площадке, что значительно сокращает общее время быстрой и медленной фазы сна (REM и NREM) и увеличивает общее время бодрствования [14, 15]. С использованием данной установки выполняли 12- и 24-часовую депривацию сна при постоянном искусственном освещении (см. рис. 1, в). Контрольные животные располагались в клетке содержания рядом с бассейном при постоянной освещенности без деления на день/ночь.

#### Методики исследования влияния депривации сна на когнитивные показатели крыс

*Открытое поле.* Исследование ориентировочно-исследовательского рефлекса (ОИР) проводили в установке «открытое поле». Методика основана на количественном измерении параметров ориентировочно-исследовательской деятельности животных, возникающих при помещении лабораторных биообъектов в условия новизны. Измерение ОИР проводили с помощью стенда, включающего модуль EthoVision XT 11, цифровую видеосистему, установку «открытое поле» для крыс — темную радиальную арену с высокими бортами. Время тестирования составляло 4,5 мин. Оцениваемые показатели: пройденная дистанция, средняя скорость перемещения, суммарная длительность замираний, количество стоек, заглядываний в норки, траектория передвижения, последовательность преодоления различных функционально-значимых зон и латентные периоды нахождения в этих зонах. Полученные результаты сравнивали с аналогичными показателями контрольной группы.

Критерием изменения ОИР крыс служит взаимосвязанное достоверное отклонение от фоновых и контрольных значений (верхнего и нижнего квартилей контроля) четырех параметров теста, полученных у животных.

*Условный рефлекс пассивного избегания.* Оценку влияния депривации сна на ассоциативную память крыс проводили с использованием методики выработки у крыс условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) с помощью стандартной установки. Регистрировали латентный период перехода в темный отсек и долю животных, совершивших переход<sup>5</sup>.

Критерием развития амнестических эффектов у крыс считали статистически значимое снижение латентного периода перехода в темную камеру по сравнению с контролем и увеличение доли животных, совершивших переход через 3, 6 и 24 ч после трехкратного обучения, проведенного сразу после прекращения депривации.

<sup>4</sup> <http://tse-systems.com/product-details/forced-running-wheels>.

<sup>5</sup> Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А.Н. Мирнова. Москва: Гриф и К, 2013. 944 с. [Mironov A.N. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' pervaya / pod red. A.N. Mirnova. Moskva: Grif i K., 2013. 944 p. (In Russ.).]

### Оценка спонтанной двигательной активности крыс с помощью актометра Opto-Varimex

Исследование ориентировочно-двигательных реакций и локомоторной активности у животных проводили на актометре Opto-Varimex 4 (Columbus Instruments, США). При исследовании общей локомоторной активности определяли траекторию движения, пройденную дистанцию, а также время покоя. Исследование ориентировочно-двигательных реакций включало оценку особенностей траектории перемещения животных и определение количества вертикальных (количество стоек) и горизонтальных (количество пересеченных квадратов) движений, интенсивность стереотипных движений в виде обнюхиваний, облизываний, грызения (суммарное количество и время) и исследовательской активности (число заглядываний в отверстия в полу манежа). Помимо оценки характера двигательных реакций, регистрация горизонтальной активности позволяет косвенно судить о степени нервно-психического возбуждения животных. При проведении теста животное помещали в центр камеры, закрывали крышку и давали 5 мин на адаптацию. По истечении времени адаптации с помощью программы Opto-Varimex 4 начинали регистрацию движений, дистанции, количества стоек и длительности стереотипных движений животного в течение 5 мин.

Критерием изменения ориентировочно-двигательных реакций и локомоторной активности у животных считали статистически значимое изменение показателей по сравнению со значением у контрольных животных.

### Методика «экстраполяционное избавление»

Исследование когнитивных функций крыс в условиях острого стресса проводили на установке экстраполяционного избавления от острой стрессовой реакции по Бондаренко [16]. Экспериментальная установка представляет собой цилиндрическую емкость (диаметр 35 см, высота 40 см), наполненную водой, температура которой 18 °С, на глубину 17,5 см от дна. В центре сосуда укреплен прозрачный пластиковый цилиндр диаметром 9 см, высотой 22 см, нижний край которого погружен в воду на глубину 2,5 см. Лабораторных животных помещали внутрь цилиндра хвостом вниз и наблюдали за поведением на протяжении 3 мин.

Регистрировали латентный период двигательной активности, число безуспешных попыток избегания, реализуемых в форме прыжков, и латентный период подныривания. Исследуемые показатели регистрировали путем однократного тестирования контрольных

и экспериментальных животных без предварительной тренировки.

Критерием оценки являлось статистически значимое изменение показателей стресс-реактивности у крыс экспериментальных групп в сравнении с результатами, полученными у контрольных животных.

Статистический анализ выполняли при помощи общепринятых статистических методов Statistica 12, Statistica+ 2005 и Excel 2016. Проверку нормальности распределения данных в отдельных группах сравнения проводили с использованием критерия Шапиро–Уилка. Однородность дисперсий оценивали с помощью критерия Фишера и теста Левена<sup>6</sup>. В качестве мер центральных тенденций для всех количественных признаков в сравниваемых группах проводили оценку медиан с определением 25-го и 75-го перцентиля. Deskриптивные статистики в тексте представлены как Me [q 25; q 75] при ненормальном распределении признака, где Me — медиана, q 25 и q 75 — 25-й и 75-й перцентиль соответственно. Межгрупповое сравнение выполняли методом линейных контрастов, выбранных априорно либо с помощью апостериорных критериев Тьюки или Дуннета [17]. Значимость межгрупповых различий величин, распределенных по закону, отличному от нормального, при невозможности нормализации определяли с помощью критериев Краскела–Уоллиса и Манна–Уитни [18]. Различия сравниваемых показателей считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

После окончания суточной депривации с использованием принудительной локомотории при скорости вращения колес 3 об/мин при визуальном осмотре животные выглядели истощенными и проявляли агрессию к исследователям, у 60% крыс отмечали припухлость в области дистальных суставов конечностей. Часть животных к моменту окончания периода депривации отказывались от движения даже в колесах, занимая вынужденное положение на спине и скользя по прутьям в процессе вращения колеса (см. рис. 1, а, б). При тестировании животных из этой группы в установках «открытое поле» и актометр отмечали минимальную двигательную активность либо полное ее отсутствие, животные забивались в угол или к бортам установок и засыпали.

После окончания депривации длительностью 12 ч при скорости вращения колес 3 об/мин животные при визуальном осмотре выглядели утомленными и проявляли агрессию к экспериментатору.

<sup>6</sup> Справочник по прикладной статистике / Под ред. Э. Ллойда, У. Ледермана, Ю.Н. Тюрина. Москва: Финансы и статистика, 1990. 510 с. [Spravochnik po prikladnoi statistike / Pod red. E. Lloida, U. Ledermana, Yu.N. Tyurina. Moskva: Finansy i statistika, 1990. 510 p. (In Russ.)].

**Таблица 1.**  
Показатели ориентировочно-исследовательской деятельности животных при различных вариантах депривации в установке «открытое поле» (n=8)

Группа	Скорость, см/с	Пройденная дистанция, см	Длительность пребывания в средней функциональной зоне, с	Длительность замирания, с	Число стоек у бортов
Без депривации	6 [5; 7]	1322 [1660; 1978]	14 [12; 16]	109 [73,8; 123,8]	18 [17; 22]
Колесная депривация 12 ч	3* [2; 4]	817* [558; 911]	4* [2; 9]	116 [81; 130]	6* [4; 8]
Колесная депривация 24 ч	2* [1; 3]	586* [569; 803]	11 [7; 15]	158* [127; 172]	3* [1; 5]
Сетка над водой 12 ч	3 [2; 6]	1104 [764; 1156]	4* [2; 9]	96 [87; 105]	9* [3; 10]
Сетка над водой 24 ч	2* [1; 3]	714* [590; 838]	0,6*# [0,4; 0,8]	122 [85; 125]	10# [7; 18]

Примечание. Различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$ : \* – с группой контроля; # – с группой «колесная депривация» 24 ч.

**Таблица 2.**  
Параметры двигательной активности крыс после различных видов депривации при тестировании в актометре (n=8)

Группа	Контрольные животные	Колесная депривация 12 ч	Колесная депривация 24 ч	Сетка над водой 12 ч	Сетка над водой 24 ч
Пройденное расстояние, см	63 [30; 75]	23 [15; 46]	22 [13; 67]	57 [12; 101]	15* [10; 28]
Длительность замираний, с	17 [15; 30]	45 [30; 60]	43* [35; 56]	45 [28; 62]	54* [35; 60]
Длительность передвижений, с	31 [20; 36]	5* [2; 10]	7* [1; 14]	8* [3; 13]	3* [1; 6]
Длительность стереотипий, с	15 [10; 28]	8 [4; 12]	11 [2; 14]	10 [5; 18]	6* [2; 9]
Число актов стереотипного поведения	18 [9; 25]	5* [4; 6]	6* [2; 9]	8 [6; 11]	4* [1; 8]
Число пересеченных квадратов	83 [50; 104]	31* [15; 47]	28 [7; 52]	65 [28; 102]	7* [3; 10]
Число актов вертикальной активности	35 [25; 40]	8* [7; 11]	11* [2; 14]	32# [16; 38]	4* [1; 8]

Примечание. Различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$ : \* – с группой контроля; # – с группой «колесная депривация» 12 ч.

Результаты оценки влияния различных видов депривации сна на показатели ориентировочно-исследовательской деятельности, спонтанной активности, тревожности и способности к обучению крыс отражены в табл. 1–4.

У всех депривированных животных регистрировали снижение ориентировочно-исследовательской деятельности, которое выразилось в уменьшении скорости, пройденной дистанции и количества стоек. Наиболее выраженное снижение двигательной активности регистрировали в группе, подвергавшейся суточной депривации с принудительной локомоцией. У животных отмечали минималь-

ную скорость передвижения с максимальным периодом замирания, статистически значимое увеличение пребывания в центральной зоне и низкую вертикальную активность в виде стоек. Когда животные подвергались депривации в клетке над водой, у них также регистрировали снижение показателей скорости и пройденной дистанции, однако вертикальная активность в виде стоек была значительно выше, чем в группах с принудительной локомоцией.

После колесной депривации в течение 12 ч по сравнению с группой контроля определяли снижение общей скорости в 2 раза (тест Краскала–Уоллиса,  $p=0,003$ ), пройденной дис-

**Таблица 3.**  
 Параметры формирования условного рефлекса пассивного избегания при различных вариантах депривации сна у крыс ( $n=8$ )

Группа	Латентное время захода в темную камеру до воздействия тока, с	Время захода в темную камеру после воздействия током, с (количество животных с нарушением/общее количество в группе)		
		Тест через 3 ч	Тест через 6 ч	Тест через 24 ч
Контрольные животные	24 [21; 28] (0/8)	180 [180; 180] (0/8)	180 [180; 180] (0/8)	180 [180; 180] (0/8)
Колесная депривация 12 ч	28 [18; 38] (0/8)	180 [180; 180] (2/8)	180 [172,5; 180] (2/8)	90 [53; 180] (4/8)
Колесная депривация 24 ч	25 [22; 28] (0/8)	180 [180; 180] (2/8)	180 [54; 180] (2/8)	114 [48; 180] (4/8)
Сетка над водой 12 ч	20 [11; 30] (0/8)	180 [180; 180] (4/8)	180 [180; 180]	180 [180; 180]
Сетка над водой 24 ч	29 [13; 46] (0/8)	180 [180; 180] (4/8)	139 [170; 180] (4/8)	180 [153; 180] (4/8)

**Таблица 4.**  
 Исследование изменения показателей стресс-реактивности в тесте «экстраполяционное избегание» ( $n=8$ ) (первое измерение)

Группа	Время подныривания, с	Число прыжков	Время двигательной активности, с
Контрольные животные	35 [28; 40]	4,0 [3; 5]	22 [20; 27]
Колесная депривация 12 ч	10* [7; 12]	6,0 [1; 7]	9* [7; 11]
Колесная депривация 24 ч	15* [8; 19]	8,0 [4; 10]	12* [7; 15]
Сетка над водой 12 ч	45* <sup>#</sup> [42; 48]	4,0 [3; 6]	24 <sup>#</sup> [19; 32]
Сетка над водой 24 ч	24 <sup>°</sup> [21; 30]	4,5 [1; 6]	23 <sup>°</sup> [18; 30]

Примечание. Различия статистически значимы при  $p \leq 0,05$ : \* – с группой контроля; # – с группой «колесная депривация» 12 ч; ° – с группой «колесная депривация» 24 ч.

танции в 1,6 раза (тест Краскела–Уоллиса,  $p=0,002$ ), длительности пребывания в функциональной зоне в 3,5 раза (тест Краскела–Уоллиса,  $p=0,004$ ), количества стоек у бортов в 3 раза (тест Краскела–Уоллиса,  $p=0,003$ ).

Использование модели колесной депривации сна в течение 24 ч приводит по сравнению с группой контроля к уменьшению общей скорости в 3 раза (тест Краскела–Уоллиса,  $p=0,003$ ), пройденной дистанции в 2 раза (тест Краскела–Уоллиса,  $p=0,004$ ), увеличению длительности замирания в 1,4 раза (тест Краскела–Уоллиса,  $p=0,005$ ), количества стоек у бортов в 6 раз (тест Краскела–Уоллиса,  $p=0,002$ ).

После водной депривации сна в течение 12 ч регистрировали снижение длительности пребывания в функциональной зоне в 3,5 раза (тест Краскела–Уоллиса,  $p=0,004$ ) и количества стоек у бортов в 2 раза (тест Краскела–Уоллиса,  $p=0,008$ ).

Увеличение длительности водной депривации сна до 24 ч приводит по сравнению с группой контроля к снижению общей скорости в 3 раза (тест Краскела–Уоллиса,  $p=0,003$ ), пройденной дистанции в 2 раза (тест Краскела–Уоллиса,  $p=0,004$ ), длительности замирания в 2,3 раза (тест Краскела–Уоллиса,  $p=0,00001$ ).

В группе «сетка над водой» 24 ч время пребывания крыс в средней функциональной зо-

не снизилось в 11 раз (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,001$ ) по сравнению с группой «колесная депривация» 24 ч. При этом количество стоек у бортов увеличилось в 3 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,004$ ).

Таким образом, ориентировочно-исследовательская активность крыс значительно снижается в условиях использования модели длительной колесной депривации сна.

В результате проведенных исследований показано, что независимо от вариантов депривации сна регистрировали статистически значимое снижение двигательной активности животных всех экспериментальных групп. Значительно уменьшались показатели горизонтальной и вертикальной активности.

Колесная депривация сна в течение 12 и 24 ч способствовала увеличению длительности замираний в 2,5 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,007$ ), снижению времени передвижений в 6 раз (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,005$ ), а также количества не только актов стереотипии в 3 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,007$ ), но и пересеченных квадратов в 2,5 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,007$ ).

Водная депривация сна в течение 12 ч способствовала только снижению длительности передвижений в 4 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,004$ ). При моделировании 24 ч водной депривации сна регистрировали снижение пройденной дистанции в 4 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,003$ ), увеличение длительности замираний в 3 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,007$ ), а также снижение длительности передвижений в 10 раз (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,0006$ ), стереотипий в 2,5 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,007$ ), количества актов стереотипного поведения в 4,5 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,002$ ), числа пересеченных квадратов в 12 раз (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,0005$ ) и актов вертикальной активности в 9 раз (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,0006$ ).

После 12 ч водной депривации увеличился показатель вертикальной активности в 4 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,003$ ) по сравнению с 12 ч моторной локомоции.

Таким образом, увеличение времени использования различных видов депривации сна приводит к снижению как двигательной, так и исследовательской активности крыс.

При оценке влияния депривации сна на процессы формирования памятного следа установлено снижение способности к обучению. При воспроизведении памятного следа через 3 ч в группе животных после депривации в колесах регистрировали заход в темный отсек 2 крыс из 8, а после суточной водной депривации — заход 4 крыс из 8. При воспроизведении памятного следа через 24 ч после обучения в группах после депривации в колесах 24 и 12 ч и в группе депривации «сетка над водой» 24 ч регистрировали

нарушения у половины экспериментальных животных. У животных после 12 ч водной депривации информация о болевом подкреплении в долговременной памяти не сохранилась.

Колесная депривация сна в течение 12 и 24 ч способствовала снижению времени подныривания в 3,5 и 2 раза соответственно (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,007$ ) в сравнении с группой контроля. При этом длительность двигательной активности снизилась в 2,4 и 1,8 раза соответственно (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,008$ ).

Использование депривационной модели типа «сетка над водой» в течение 12 ч способствовало развитию утомления у крыс, что проявлялось в увеличении длительности подныривания на 20% (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,03$ ) в сравнении с контрольными животными. При этом статистически значимого изменения длительности двигательной активности в воде и количества прыжков у крыс не регистрировали.

После 12 ч водной депривации увеличилась длительность подныривания в 4,5 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,003$ ) по сравнению с 12 ч моторной локомоции. Водная депривация в течение 24 ч способствовала увеличению времени подныривания в 1,6 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,009$ ) по сравнению с 24 ч моторной локомоции.

Длительность двигательной активности в экспериментальных группах коррелировала с общим временем, потраченным для избавления от острой стрессовой реакции. Так, при 12 ч моторной локомоции время двигательной активности крыс снизилось в 2,6 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,007$ ) по сравнению с животными после водной депривации. Колесная депривация сна в течение 24 ч способствовала увеличению скорости избавления от стресс-реакции в 2 раза (тест Краскела—Уоллиса,  $p=0,008$ ) по сравнению с животными после 24 ч водной депривации.

Таким образом, при моделировании депривации сна с использованием принудительной локомоции регистрировали увеличение тревожности животных в сочетании с физическим утомлением, о чем свидетельствует увеличение количества прыжков при уменьшении общего времени двигательной активности в условиях острой стрессовой реакции.

## Заключение

По результатам экспериментального изучения влияния различных режимов депривации сна у крыс установлено, что принудительная локомоция крыс приводит к значительному физическому утомлению и снижению ориентировочно-исследовательской активности,

что оказывает негативное влияние на организм животного. Учитывая, что длительная принудительная двигательная активность сопоставима с активной физической нагрузкой у человека, целесообразно проводить предварительные тренировки экспериментальных животных во избежание неадекватной нагрузки на суставы. Кроме того, к недостаткам принудительной локомоции можно отнести то, что грызуны часто находят стратегии для отдыха: движение в направлении, противоположном вращению колеса, фиксация за неподвижную кормушку, интегрированную в колесо, короткий сон перед падением при обороте медленно вращающегося колеса на четверть и более.

На основании представленных данных показано, что методика принудительной локомоции в колесах с электрическим приводом (колесная депривация) наиболее приближена к моделированию деятельности, сопровождающейся истощающей физической нагрузкой, психоэмоциональным стрессом и отсутствием сна. С позиции формирования моделей астенических состояний при данных вариантах депривации будут развиваться повышенная истощаемость и утомляемость, слабость, вялость, снижение психической активности и гиперестетические проявления — раздражительность, тревожность, аффективная лабильность, что определяет наибольшую адекватность применения данной методики для исследования препаратов стимулирующего типа действия и анксиолитиков или комбинации психостимуляторов и транквилизаторов.

Водная депривация, когда падение крыс с перекладины приводит к нарушению сна, в отличие от колесной депривации не приводит к выраженному физическому истощению, однако возникают стресс-реактивное состояние и астенические нарушения у крыс. С использованием модели водной депривации можно воспроизводить относительно простые по структуре астенические нарушения, такие как первичные реактивные состояния и функциональная умственная недостаточность, а также последствия стрессогенных ситуаций и утомления, развивающиеся у практически здоровых лиц при чрезмерных психоэмоциональных нагрузках.

Указанные модели целесообразно применять при исследовании эффективности зугероиков, ноотропов и препаратов, повышающих умственную работоспособность.

При выборе батареи поведенческих тестов необходимо учитывать высокую вероятность получения ложноположительных результатов в случаях, если стрессогенность и последствия физических нагрузок в фазе депривации избыточны и превышают по значимости мотивацию, на которой основаны выбранные методики оценки когнитивных функций.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Caldwell J.A., Smythe N.K., Leduc P.A. Dextroamphetamine and modafinil are effective countermeasures for fatigue in the operational environment human effectiveness // *Aviat. Space Environ. Med.* 2000. Vol. 71. N. 1. P. 7–18.
2. Ивченко Е.В., Бегашвили Э.Н., Ветряков О.В. и др. Исследование взаимодействия мезокарба и ладастена по их влиянию на физическую работоспособность лабораторных животных // *Биомедицинский журнал МЕДЛАЙН.РУ.* 2018. Т. 19. № 22. С. 307–320. [Ivchenko E.V., Begashvili A.N., Vetryakov O.V. et al. Issledovanie vzaimodeistviya mezokarba i ladastena po ih vliyanu na fizicheskuyu rabotosposobnost laboratornih jivotnih // *Bio-meditsinskii jurnal MEDLAIN.RU.* 2018. Vol. 19. N. 22. P. 307–320. (In Russ.)].
3. Eliyahu U., Berlin S., Hadad E. et al. Psychostimulants and military operations // *Mil. Med.* 2007. Vol. 172. N. 4. P. 383–387. DOI: 10.7205/milmed.172.4.383.
4. Van Puyvelde M., Van Cutsem J., Lacroix E., Pattyn N. A state of the art review on the use of modafinil as a performance-enhancing drug in the context of military operationality // *Mil. Med.* 2022. Vol. 187. N. 2. P. 52–64. DOI: 10.1093/milmed/usab398.
5. Srichawla B.S., Telles C.C., Schweitzer M., Darwish B. Attention deficit hyperactivity disorder and substance use disorder: a narrative review // *Cureus Journal of Medical Science.* 2022. Vol. 14. N. 4. P. 101–109. DOI: 10.7759/cureus.24068.
6. Чепур С.В., Фатеев С.В., Шустов Е.Б. и др. Локсидан — психостимулятор нового поколения // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* 2021. Т. 84. № 2. С. 1–11. [Chepur S.V., Fateev I.V., Shustov E.B. et al. Loxidan — psihostimulyator novogo pokoleniya // *Experimental'naya i klinicheskaya farmakologiya.* 2021. Vol. 84. N. 2. P. 1–11. (In Russ.)]. DOI: 10.30906/0869-2092-202184-2-84-90.
7. Colavito V., Fabene P.F., Grassi-Zucconi G. et al. Experimental sleep deprivation as tool to test memory deficits in rodents // *Front. Syst. Neurosci.* 2013. Vol. 7. N. 106. P. 1–16. DOI: 10.3389/fnsys.2013.00106.
8. Longordo F., Kopp C., Luthi A. Consequences of sleep deprivation on neurotransmitter receptor expression and function // *Eur. J. Neurosci.* 2009. Vol. 29. N. 9. P. 1810–1819. DOI: 10.1111/j.1460-9568.2009.06719.x.
9. McCarley R.W. Neurobiology of REM and NREM sleep // *Sleep Med.* Vol. 8. N. 4. P. 302–330. DOI: 10.1016/j.jsleep.2007.03.005.
10. Pierard C., Liscia P., Philippin J.N. et al. Modafinil restores memory performance and neural activity impaired by sleep deprivation in mice // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2007. Vol. 88. P. 55–63. DOI: 10.1016/j.pbb.2007.07.006.
11. McCarthy A., Loomis S., Eastwood B., Wafford K.A., Winsky-Sommerer R. Modelling maintenance of wakefulness in rats: comparing potential non-invasive sleep-restriction methods and their effects on sleep and attentional performance // *J. Sleep Res.* 2017. Vol. 26. P. 179–187. DOI: 10.1111/jsr.12464.

12. Meerlo P., Sgoifo A., Suchecki D. Restricted and disrupted sleep: effects on autonomic function, neuroendocrine stress systems and stress responsivity // *Sleep Med. Rev.* 2008. Vol. 12. P. 197–210. DOI: 10.1016/j.smrv.2007.07.007.
13. Rechtschaffen A., Bergman B.M. Sleep deprivation in the rat by the disk over water method // *Behav. Brain Res.* 1995. Vol. 69. P. 55–63. DOI: 10.1016/0166-4328(95)00020-t.
14. Lan Ch.-T., Hsu J.A. Influence of sleep deprivation coupled with administration of melatonin on the ultrastructure of rat pineal gland // *Br. Res.* 2001. Vol. 910. N. 1. P. 1–11. DOI: 10.1016/s0006-8993(01)02714-7.
15. Shinomiya K., Okuma C., Mio M. et al. Effects of short-acting hypnotics on sleep latency in rats placed on grid suspended over water // *Eur. J. Pharmacol.* 2003. Vol. 460. P. 139–144. DOI: 10/1016/s0014-2999(02)02915-1.
16. Бондаренко Н.А. Индивидуальные различия поведения крыс в тесте «Экстраполяционное избегание»: возможность выявления «тревожного фенотипа» // *Инновации в фармакологии: от теории к практике*, Санкт-Петербург, 27–28 октября 2014 года. Тезисы конференции. Санкт-Петербург: Альта Астра, 2014. С. 28–30. [Bondarenko N.A. Individualnie razlichiya povedeniya kris v teste “Extrapolyacionnoe izbavlenie”: vozmojnost viyavleniya “trevojnogo fenotipa” // *Innovacii v farmacologii: ot teorii k praktike*, Sankt-Peterburg, 27–28 oktyabrya 2014 goda. Tezisi konferencii. Sankt-Peterburg: Alta Astra, 2014. P. 28–30. (In Russ.)].
17. Hothorn T., Bretz F., Westfall P. Simultaneous inference in general parametric models // *Biometr. J.* 2008. Vol. 50. N. 3. P. 346–363.
18. Mann H.B., Whitney D.R. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other // *Ann. Math. Stat.* 1947. Vol. 18. P. 50–60.

#### Информация об авторах

**Д.К. Глинко**, старший научный сотрудник научно-исследовательского испытательного отдела, gniiivm\_5@mil.ru

**Н.Г. Венгерович**, доктор медицинских наук, доцент, начальник научно-исследовательского испытательного отдела

**А.С. Никифоров**, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник научно-исследовательского испытательного управления

**О.И. Алешина**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник научно-исследовательского испытательного отдела

**М.С. Вахвийнен**, кандидат биологических наук, младший научный сотрудник научно-исследовательского испытательного отдела

ФГБУ «Государственный научно-исследовательский испытательный институт военной медицины» Министерства обороны Российской Федерации, 195043, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, д. 4.

#### Information about the authors

**D.K. Glinko**, senior researcher at the research and testing department, gniiivm\_5@mil.ru

**N.G. Vengerovich**, MD, assistant professor, head of the research and testing department

**A.S. Nikiforov**, BD, professor, leading researcher at the scientific research testing department

**O.I. Aleshina**, PhD in Biology, senior researcher at the research and testing department

**M.S. Vakhviyainen**, PhD in Biology, junior researcher at the research and testing department

State Research and Testing Institute of Military Medicine of the Ministry of Defense of the Russian Federation,

195043, Russia, St. Petersburg, Lesoparkovaya st. 4.

---

#### Вклад авторов в написание статьи

**Д.К. Глинко, О.И. Алешина** — существенный вклад в концепцию или дизайн работы, написание текста, согласие нести ответственность за все аспекты работы, надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с достоверностью данных и целостностью всех частей статьи, интерпретация результатов работы.

**Н.Г. Венгерович, А.С. Никифоров, М.С. Вахвияйнен** — критический пересмотр содержания текста, утверждение окончательного варианта статьи для публикации.

#### Сведения о конфликте интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Дата поступления рукописи  
в редакцию: 03.04.2024

Дата рецензии статьи: 16.05.2024

Дата принятия статьи к публикации: 24.05.2024

#### Authors contribution

**D.K. Glinko, O.I. Aleshina** — significant contribution to the conception or a design of the study, writing, agreement to be responsible for all aspects of the work, proper study and resolution of issues related to the validity of the data and the integrity of all parts of the paper, analyzing and interpreting the results of the study.

**N.G. Vengerovich, A.S. Nikiforov, M.S. Vakhviyainen** — critical revision of the text content, approval of the final version of the articles for publication.

#### Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Received: 03.04.2024

Reviewed: 16.05.2024

Accepted for publication: 24.05.2024