

Tartu Ülikool  
Psühholoogia instituut

Cristina Kroon

**KROONILISE MUUTLIKU STRESSI MÕJU PALJU JA VÄHE SUHKRULAHUST  
TARBIVATELE ROTTIDELE**

Seminaritöö

Juhendajad: Kadri Kõiv PhD

prof. Jaanus Harro MD, PhD

Läbiv pealkiri: Stress palju ja vähe suhkrolahust tarbivatel rottidel

Tartu 2015

### **Kokkuvõte**

Käesoleva töö eesmärgiks oli võrdlevalt uurida palju ja vähe suhkrulahust tarbivate (vastavalt HS ja LS) katseloomade stressitundlikkust. Kümme HS ja kümme LS rottid läbisid 4-nädalase kroonilise muutliku stressi režiimi. Stressi mõju sedastamiseks jälgiti muutusi suhkrulahuse tarbimises ning kaalus, mõõdeti stressist põhjustatud hüpertermiat ning ultrahelihäälitsusi vastusena uuele keskkonnale. Pärast stressirežiimi lõppi viidi läbi käitumuslikud katsed tõstetud nullpuuris ja avarväljal. HS ja LS rottide stressitundlikkuses ei leitud püsivaid erinevusi, v.a avarväljal, kus HS stressiloomad olid oluliselt aktiivsemad. Siiski, stressigruppide suhkrulahuse tarbimise dünaamika lubab oletada, et HS ja LS rottide stressitundlikkus võib olla mõnel määral erinev ning nende stressiga kohastumine erinevalt reguleeritud.

Märksõnad: Wistari rotid, stressitundlikkus, krooniline muutlik stress, suhkrulahuse tarbimine

**Abstract****THE EFFECT OF STRESS ON HIGH AND LOW SUCROSE INTAKE RATS**

In this study the differences in stress susceptibility between rats with high and low sucrose intake (HS and LS, respectively) were examined. Ten HS and ten LS rats were introduced to four weeks of chronic variable stress. Weekly sucrose tests and weighings were carried out to measure the efficacy of stress. Stress induced hyperthermia and ultrasonic vocalizations were measured before and after the stress. After the regime elevated zero maze and open field tests were carried out. There were no persistent differences in stress susceptibility between HS and LS rats, except for open field test where HS stressgroup was significantly more active than LS group. However, the sucrose intake tests showed different dynamics which lend support to the idea that HS and LS rats can be somewhat different in stress susceptibility and adaptation to stress.

Keywords: Wistar rats, stress susceptibility, chronic variable stress, sucrose intake

## Sissejuhatus

### Depressioon ja selle tekkepõhjused

Depressioon on meeleoluhäire, mille tuumiksümptomiteks on alanenud meeleolu, huvi ja elurõõmu kadumine ning energia vähenemine (WHO, 1992). Maailma Terviseorganisatsiooni hinnangul põeb depressiooni rohkem kui 350 miljonit inimest erinevatest vanuserühmadest. Depressioon on üks peamistest töövõimetuse põhjustajatest ja oma pika kulu tõttu nii haigele kui ka tervishoiusüsteemile koormav (WHO, 2012). Seetõttu on depressiooni kujunemise põhjuste väljaselgitamine ning ravimeetodite väljatöötamine olnud teadlaste huviorbiidis juba pikka aega.

Depressioon on keerulise etioloogiaga psühhiaatriline häire, mille tekkepõhjuste hulka kuuluvad nii geneetilised kui ka keskkondlikud tegurid. Geneetilise teguri all mõistetakse kaasasündinud soodumust või vastuvõtlikkust depressioonile ning neid tegureid on võimalik hinnata kaksikute- ja perekonnauuringute põhjal. Kaksikutel tehtud uuringud annavad alust arvata, et depressioon on 50-60% ulatuses pärilik ning perekondade uuringud näitavad, et esimese astme sugulaste hulgas on depressiooni haigestumise risk kahe- kuni kolmekordistunud. Spetsiifiliste geenide, mis vastutavad depressiooni haigestumise eest, lokaliseerimine ja identifitseerimine on osutunud keerukaks ja pikaajaliseks protsessiks, mille kõige üldisemad järeldused on, et: 1) pole olemas ühtki geeni, mis ainuüksi vastutaks depressiooni tekke eest 2) iga depressiooni soodustav geenialleel moodustab väikse osa kogu geneetilisest riskist 3) keeruline geneetiline heterogeensus võib teha indiviidi vastuvõtlikuks ka teiste sarnaste sündroomide suhtes, mida on raske kliinilises pildis eristada (Lohoff, 2010).

Depressiooni kujunemisel mängib võib-olla ehk suurematki rolli keskkond. Stressirikkaid elusündmusi peetakse üheks olulisemaks depressogeenseks teguriks, mida on tõestatud ka loomudelitel (Anisman & Zacharko, 1990). Haigus võib kujuneda vastusena akuutsele negatiivsele sündmusele (näiteks lähedase kaotus) või pikaajalisele stressorile (näiteks võimetus leida tööd). Ehkki kõik inimesed kogevad elu jooksul stressirikkaid sündmusi, ei haigestu iga inimene depressiooni. Järelikult esinevad erinevused indiviidide vastuvõtlikkuses depressioonile (Kendler et al., 1995). Seda on täheldatud ka katseloomadel, mistõttu on loomkatsemudelite abil hakatud uurima indiviididevahelisi erinevusi käitumuslikul, geneetilisel ja füsioloogilisel tasandil, mis määravad vastuvõtlikkuse depressioonile (Harro, 2010).

**Depressiooni mudeldamine katseloomadel. Kroonilise varieeruva stressi mudel.**

Depressioon on sündroom, mis koosneb mitmetest sümptomitest. Haiguse mudeldamisel on eesmärgiks tekitada katseloomadel üks või mitu nendest sümptomitest, et uurida selle psühhopatoloogilisi aspekte (Moreau, 2002). Anhedoonia ehk huvide ja rõõmutunde kadumine ning eemaldumine tavapäraselt meeldivatest tegevustest on üks depressiooni põhisümptomitest (WHO, 1992) ning ka üks enimmudeldatud sümptomeid depressiooni uurimisel (Strekalova & Steinbusch, 2010; Willner, 1997, 2005).

Anhedoonia tekitamiseks kasutatakse kroonilise muutliku stressi (CVS – *chronic variable stress*) mudelit, milles loomad puutuvad kokku keskkondlike stressoritega pikema aja jooksul (Willner, Scheel-Krüger, & Belzung, 2013). Selline režiim matkib inimeste igapäevaelus ettetulevaid ebameeldivaid sündmusi. Stressorid on oma olemuselt vaid mõõdukalt ebamugavust tekitavad, kuid ettearvamatud – habituatsiooni vältimiseks kasutatakse iga päev erinevaid stressoreid -, mistõttu on katseloomad kroonilise keskkondliku stressi all. CVS-i katseloomadel tekivad käitumuslikud puudujäägid, mis väljendavad huvi puudumist varasemalt naudingut pakkuva stiimuli suhtes (ehk anhedooniat), näiteks suhkrulahuse vähenenud tarbimine, vähenenud suutlikkus seostada tasu kindla keskkonnaga (kohaelistus) või vähenenud tundlikkus elektrilise ajustimulatsiooni suhtes (Moreau, 2002). On näidatud, et kroonilise stressi mudel kutsus esile ka rea neurobioloogilisi muutusi, mis on omased depressioonile (Hill, Hellemans, Verma, Gorzalka, & Weinberg, 2012). Seega on CVS mudel sobiv nii depressiooni käitumuslike kui ka neurobioloogiliste muutuste uurimiseks.

**Suhkrulahuse tarbimine kui anhedoonia indikaator**

Nii inimestel kui ka närilistel on kaasasündinud omadus eelistada magusaid maitseid (Keskitalo et al., 2007a,b; Gosnell et al., 2010; Pothion, Bizot, Trovero, Belzung, 2004). Magusal lahusel on sarrustav efekt ning magusat lahust eelistavad loomad on tundlikumad ka näiteks alkoholi sarrustava omaduse suhtes (Martinetti, Khan, & Lewis, 2007) ja vastupidi – alkoholi veele eelistavad loomad tarbivad ka rohkem suhkrulahust (Gosnell ja Krahn, 1992; Sinclair, Kampov-Polevoy, Stewart, & Li, 1992). Katseloomade vahel esinevad püsivad erinevused suhkrulahuse tarbimises (vt nt Tõnissaar, Herm, Rinken, & Harro, 2006), mistõttu võib järeldada, et need loomad on erineva tundlikkusega magusa lahuse sarrustasu suhtes.

Suhkrulahuse tarbimist või eelistust kasutatakse laialdaselt prekliinilises psühhofarmakoloogias, eriti indikaatorina stressi efektiivsusest näiteks kroonilise kerge või muutliku stressi mudelites (Willner, 2005). Depressiooni kujunedes täheldatakse tavaliselt

huvi kadumist sarrustava stiimuli vastu, mida näitab suhkrulahuse tarbimise vähenemine (vt nt Kanarik et al., 2011). Mõned laborid on raporteerinud ka suhkrulahuse tarbimise suurenemist vastusena stressile (vt nt Pijlman, Wolterink, & van Ree, 2003).

Tõnissaar, Herm, Rincken, & Harro (2006) leidsid, et suhkrulahuse tarbimine on individuaalselt stabiilne loomujoon – erinevate suhkrutestide tulemused korreleeruvad kõrgelt, eriti kui mõõta tarbimist pimedas faasis, mis on rottide aktiivne aeg. Varasemad uuringud on vähest suhkrulahuse tarbimist seostanud kõrgema ärevusega (DeSousa, Wunderlich, De Cabo, & Vaccarino, 1998) ning ka madalama amfetamiini ja kokaiini eneselemanustamisega (DeSousa, Bush, Vaccarino, 2000 ja Gosnell, 2000). Erineval määral suhkrulahust tarbivad loomad erinevad ka HPA telje aktiivsuse osas (Duncko, Schwendt, & Jezova, 2003). Sotsiaalse alistamise stressirežiimi tulemusena vähenes rabelemine sundujumistestis sõltuvalt suhkrulahuse tarbimisest – palju suhkrulahust tarbivad loomad rabelesid vähem. Sama režiimi tulemusel vähenes aju regionaalne energiametabolism, mille muutus oli samuti suurem palju suhkrulahust tarbivatel rottidel (Kanarik et al., 2011). Need andmed annavad alust oletada, et ehkki HS rotid on tundlikumad sarrustavate stiimulite suhtes, on nad tundlikumad ka stressi suhtes.

### **Rottide ultrahelihäälitsused**

Depressiooni uurimisel on valdavalt keskendunud negatiivsele emotsionaalsusele, kuid positiivne emotsionaalsus (või selle puudumine) on vähemalt sama oluline (Seligman & Csikszentmihalyi, 2000; Berridge, 2003). Positiivsete emotsioonide vähenemine on üks depressiooni keskseid sümptomeid (Clark & Watson, 1991; Forbes & Dahl, 2005). Rottide ultrahelihäälitsused (USV) võimaldavad määratleda katselooma emotsionaalsust. Erinevalt teistest positiivse afekti mõõtmise meetoditest ei sõltu ultrahelihäälitsused homöostaasist ega looma aktiivsest tegevusest, nagu näiteks suhkrulahuse tarbimine või intrakraniaalne enese-stimulatsioon (Harro, 2010).

Rottide USV-d võib jagada kahte kategooriasse: kõrge sagedusega 50-kHz häälitsused ehk kudinad (ing k *chirps*) ja madalama sagedusega 22-kHz häälitsused, kusjuures need väljendavad vastandlikke afekte (Knutson, Burgdorf, & Panksepp, 1999; Burgdorf, Knutson, Panksepp, & Shippenberg, 2001). Kudinaid kutsuvad esile sarrustava efektiga stiimulid ning ootus, näiteks sotsiaalne kontakt, mõnuained või aju elektriline stimulatsioon (Burgdorf, Knutson, & Panksepp, 2000; Brudzynski & Pniak, 2002; Panksepp, Knutson, & Burgdorf, 2002). Eemaletõukavad stiimulid, nagu näiteks võõrutusnähud või elektrišokk, kutsuvad esile 22-kHz häälitsusi (Brudzynski, 2001; Portfors, 2007). Eemaletõukavad stiimulid, mis

tõstavad 22-kHz hääliitsuste hulka, vähendavad samaaegselt 50-kHz hääliitsusi (Burgdorf et al., 2001). Kudisemine on stabiilne loomujoon, mis varieerub isendite vahel (Panksepp et al., 2002; Mällo et al., 2007; Schwarting, Jegan, Wöhr, 2007) ning millega kaasnevad ka käitumuslikud erinevused ärevuse ja depressiooni uurimise testides (Mällo et al., 2007).

Schwarting, Jegan & Wöhr (2007) näitasid, et katseloomade omadus kuuldavale tuua 50-kHz hääliitsusi on püsiv ka situatsiooniti. Nad testisid rotte erinevates tingimustes ning leidsid, et loomad kudisesid nii kodupuuris kui ka uues puuris ning seda ruumis, kus polnud ühtegi liigikaaslast. Kudisemine ei sõltunud loomade energeetilisest seisundist: nad tõid kudinaid esile nii siis, kui toit oli vabalt kätte saadav kui ka kerge nälja olukorras.

Tuginedes varasematele uurimistöödele on alust arvata, et uus puur kui stiimul võib katseloomadel esile kutsuda nii positiivseid kui negatiivseid emotsioone. Kui katseloom teeb palju 50-kHz hääliitsusi, võiks seda tõlgendada kui uudisuse sarrustavat efekti, samas kui 22-kHz hääliitsused võiksid väljendada neofobsust uue keskkonna vastu. Antud töös huvitab meid, millist reaktsiooni uus puur rottides esile kutsub ning kas ja kuidas mõjutab seda stress.

### **Stressist põhjustatud hüpertermia (SPH)**

Stressist põhjustatud hüpertermia on keha süvatemperatuuri tõus vastusena stressile ja ärevusele (Vinkers et al., 2008). SPH hindamiseks teostatakse kaks mõõtmist 15-minutilise vahega, millest esimene toimib akuutse stressorina ning tõstab seetõttu katselooma kehatemperatuuri. Teoreetiliselt võiks erineva stressitundlikkusega katseloomadel (näiteks kõrge/madala uudistamisaktiivsusega, kõrge/ madala positiivse afektiivsusega või kõrge/madala suhkrutarbimisega) SPH vastus erineda – stressi suhtes tundlikumatel loomadel võiks eeldada suuremat kehatemperatuuri tõusu vastusena akuutsele stressorile.

Stressvastust vahendab tsentraalne serotonergiline süsteem (5-HT), mis on seotud nii depressiooni kui ärevushäirete etioloogiaga ning on ka mõlema seisundi ravi märklauaks (Morilak & Frazer, 2004; Lanfumey, Mongeau, Cohen-Salmon, & Hamon, 2008). Nii inimestel kui ka loomadel läbi viidud uuringud viitavad 5-HT<sub>1A</sub> retseptori düsfunktsioonile ärevuse ja depressiooni patofüsioloogias (Lesch & Gutknecht, 2004; Akimova, Lanzenberger, & Kasper, 2009). 5-HT<sub>1A</sub> retseptor osaleb muuhulgas ka kehatemperatuuri regulatsioonis (Lin, Tsay, Su, Chueh, 1998; Cryan, Kelliher, Kelly, & Leonard, 1999) ja vahendab stressist põhjustatud kehatemperatuuri tõusu (Bouwknicht, Olivier, & Paylor, 2007).

Kõiv ja Harro (2010) näitasid, et stressist põhjustatud hüpertermiline vastus ei erine oluliselt erineva uudistamisaktiivsusega rottidel, aga neil on väiksem 5-HT<sub>1A</sub> ekspressioon ja funktsionaalsus, mida näitab 5-HT<sub>1A</sub> agonisti põhjustatud hüpotermiline efekt

stressitingimustes (Altoa, Kõiv, Hinsley, Brass, & Harro, 2010; Kõiv & Harro, 2010). Ka kroonilise stressi režiimi mudelid, mida kasutatakse loomadel depressiooni tekitamiseks, põhjustavad 5-HT<sub>1A</sub> geeni ekspressiooni vähenemist ja retseptorite sidumisvõime allareguleerimist hipokampuses ja prefrontaalkoores (Watanabe, Sakai, McEwen, & Mendelson, 1993; Lopez, Chalmers, Little, & Watson, 1998; Kieran, Ou, & Iyo, 2010). On näidatud, et erineva uudistamisaktiivusega rottidel erineb SPH vastus oluliselt kontrollgrupi ja stressirežiimi läbinud loomade vahel: stressigrupp on SPH osas tundlikum ning nende süvatemperatuur tõuseb rohkem (Peet, 2013).

Lähtudes varasematest andmetest uuritakse käesolevas töös HS ja LS rottide SPH vastust eesmärgiga selgitada, kas need grupid on stressi suhtes erineva tundlikkusega.

### **Uurimuse eesmärk**

Katseloomade vahel esinevad püsivad erinevused suhkrulahuse tarbimise tasemes (Tõnissaar, Herm, Rincken, & Harro, 2006). Käesoleva töö eesmärgiks on selgitada, kas erineva suhkrulahuse tarbimise tasemega rottide vahel esineb erinevusi stressitundlikkuses ja seeläbi vastuvõtlikkuses depressioonile. Varasematele uuringutele tuginedes püstitati uurimisküsimus, kas palju suhkrulahust tarbivad rotid on stressi suhtes tundlikumad kui vähe suhkrulahust tarbivad rotid. Uurimisküsimusest lähtuvalt püstitati järgnevad hüpoteesid:

1. Stressi tõttu võtavad HS rotid rohkem kaalust alla kui LS rotid
2. Stressi tõttu väheneb HS rottide suhkrutarbimine rohkem kui LS rottide suhkrutarbimine
3. Stressirežiimi mõjul tõuseb HS rottide kehatemperatuur akuutse stressoriga kokkupuutel rohkem kui LS rottidel
4. Stress vähendab HS rottidel 50-kHz ultrahelihäälitsusi rohkem kui LS rottidel
5. HS rotid on stressijärgselt nullpuuris kõrgema ärevusega kui LS rotid
6. HS rotid on stressijärgselt avarväljal kõrgema ärevusega kui LS rotid

Käesolev uurimistöö aitab loodetavasti stressitundlikkuse aluseks olevaid tegureid ja seeläbi ka depressioonile vastuvõtlikkust paremini mõista. Töö autor osales kõikides uurimuse läbiviimise etappides.

## **Meetodid**

### **Katseloomad ja üldised protseduurid**

Katseloomadena kasutati täiskasvanud isaseid Wistar rotte ( $n=40$ , kaal 420-666 g eksperimentide alguses), kes majutati neljakaupa standardsetesse polüpropüleenist puuridesse

reguleeritud valgustsükli (12 h valguse/pimeduse tsükkel, tuled põlema kell 8.00) ja temperatuuriga (20-21 °C) ruumis. Toit ja vesi olid vabalt kättesaadavad, v.a kui kroonilise muutliku stressi protseduurid nõudsid vastupidist.

Eksperiment algas nelja järjestikuse suhkrulahuse tarbimise baastaseme mõõtmise testiga 47 rotil, mille alusel jagati loomad palju suhkrulahust tarbivateks (HS – *high sucrose intake*) ja vähe suhkrulahust tarbivateks (LS – *low sucrose intake*), kusjuures seitse keskmise tarbimise tasemega rott jäeti katsest välja. Mõlemad grupid jagati veel pooleks, nii et moodustus neli katsegruppi: HS stressigrupp, HS kontrollgrupp, LS stressigrupp ja LS kontrollgrupp (kõigis  $n=10$ ). Stressigrupi loomadele sai osaks neli nädalat kroonilist muutlikku stressi, 12 erinevat stressorit nädalas. Suhkrulahuse tarbimist mõõdeti vahetult enne stressi, stressirežiimi jooksul iganädalaselt ning vahetult pärast stressi. Samuti mõõdeti stressi poolt esile kutsutud hüpertermiat enne stressi, stressirežiimi keskel ning pärast stressirežiimi. Enne ja pärast stressirežiimi mõõdeti ultrahelihäälitsusi uues puuris. Stressirežiimi lõppedes viidi läbi käitumuslikud testid nullpuuris ja avarväljal. Kõik käitumuslikud testid viidi läbi valgustsükli valgus faasis ajavahemikus 10.00-18.00, välja arvatud suhkrulahuse tarbimise test. Kõik eksperimendid olid vastavuses Euroopa Liidu seadustega (direktiiv 2010/63/EU) ning katseplaan oli saanud Eesti Põllumajandusministeeriumi loomkatseprojekti loakomisjoni heakskiidu.

### **Suhkrulahuse tarbimise test**

Eksperimendi alguses läbi viidud kolme suhkrulahuse testi tulemuste põhjal arvutati iga roti keskmine tarbimise väärtus, mida kasutati edasistes katsetes baastasemena. Baasmõõtmiste alusel valiti edasisteks katsetest välja 40 looma mõlemast äärmusest. Anhedoonia sedastamiseks korrati suhkrulahuse tarbimise testi iganädalaselt ka stressirežiimi jooksul. Testid viidi läbi valgustsükli pimedas faasis ja iga test kestis 12 tundi. Loomad paigutati üksikmajutusse üks tund enne testi algust ning igale puurile paigutati kaks joogipudelit, millest ühes oli tavaline joogivesi ning teises 1%-line suhkrulahus, kusjuures katsekorrati oli joogipudelite asukoht tasakaalustatud. Pärast testi lõppu paigutati loomad taas grupimajutusse. Toit oli katseloomadele vabalt kättesaadav kogu suhkrulahuse testi jooksul. Suhkrulahuse ja vee tarbimist mõõdeti, kaaludes joogipudeleid enne ja pärast testi. Esimene kaalumine toimus üks tund pärast katse algust ning teine 10 tunni pärast. Loomad jagati palju suhkrulahust tarbivateks (HS rotid) ja vähe suhkrulahust tarbivateks (LS rotid) vastavalt baastaseme tarbimise alusel tehtud mediaanpoolitusele.

### **Krooniline muutlik stress**

Enne stressirežiimi algust jagati loomad katse- ja kontrollgruppidesse, mis olid tasakaalustatud suhkrulahuse tarbimise, kaalu ja uues puuris tehtud 50-kHz häälsüste osas. Kroonilise muutliku stressi režiim (Mällo, Matrov, Kõiv, & Harro, 2009) kestis neli nädalat ja koosnes 12 erinevast stressorist, mida kasutati vaheldumisi 1-2 tükki 24 h jooksul. Stressoriteks olid: 1) lühiaegne liikumise piiramine (3 min) 2) stroboskoopiline valgus (12 h, 10 Hz, 2 lx) 3) pesulõksuga saba näpistamine 1 cm sabajuurest distaalselt (5 min) 4) puurikalle (45°, 12 h) 5) maapinnast 1,5 m kõrgusele tõstetud alusel eredas valguses viibimine (900 lx, 30 min) 6) külm vesi (4°C) puuris (800 ml vett kallati loomadele ning vesi jäeti allapanuta puuri 12 h) 7) liikumise takistamine väikses puuris (11x16x7 cm, 2 h) 8) tugev valgus eeldatud pimedada faasi ajal (900 lx, 12 h) 9) viibimine „ülerahvastatud“ puuris (8 rottid standardpuuris, 12 h) 10) valge müra (1h) 11) 4°C ruumis viibimine (1 h) 12) müra pimedada faasi ajal (10 min intervallidena, kokku 1 h). Kõik protseduurid viidi läbi eraldi katseruumis (v.a puurikalle, ülerahvastatud puur ja märg puur), et mitte häirida kontrollgrupi loomi. Stressirežiimi protseduurid viidi läbi valgese faasis, v.a need, mis keetsid üleöö.

### **Stressist põhjustatud hüpertermia (SPH)**

Stressist põhjustatud hüpertermiat mõõdeti kolm tundi pärast suhkrulahuse testi lõppu üksikmajutusest. SPH mõõtmiseks viidi loomad üksikpuuriga katseruumi. Kehatemperatuuri mõõdeti vahetult pärast katseruumi viimist ( $T_0$ , baastase) ning 15 minuti pärast ( $T_{15}$ , temperatuur stressiolukorras) (Vinkers et al., 2008). Rektaalne kehatemperatuuri mõõtmine toimus akuutse stressorina: rottid hoiti õrnalt kinni ning pärasoolde sisestati 5 cm sügavusele libestatud termomeetrisond (RET-2, Physitemp Instruments Inc, USA). Ühe minuti möödudes märgiti üles termomeetri näit (BAT-12R, Physitemp Instruments Inc, USA). Pärast  $T_{15}$  mõõtmist viidi loomad tagasi koduruumi. Kokku mõõdeti stressist põhjustatud hüpertermiat kolmel korral: enne stressirežiimi algust, selle keskel ning režiimi lõppedes. Arvutati iga rotid SPH vastus ( $T_{15}-T_0$ ).

### **Ultrahelihäälsused uues puuris**

Ultrahelihäälsüste mõõtmine viidi läbi rottid hoiuruumi nurgas, mis oli kodupuuridest kõige kaugemal ning eraldatud vaheseinaga. Katse läbiviimise ajaks paigutati loom uude puuri, mis oli standardse grupimajutuse puuriga identne. Ultrahelihäälsüste mikrofoni (Avisoft Ultra Sound Gate 116-200, Avisoft Bioacoustics, Berliin, Saksamaa) paigutati umbes 30 cm kõrgusele puuri põrandast. Igal katseloomal lasti puuri uudistada kuus

minutit, mille jooksul salvestati ultrahelihäälitsused 16-bitises formaadis arvuti kõvakettale. Häälitsused kuvati jooksvalt arvutiekraanile, kust need kokku loeti.

### **Nullpuuri test**

Nullpuuri test viidi läbi peale stressirežiimi lõppu. Nullpuur on sõõrikukujuline tasapind, mis on jaotatud neljaks võrdseks osaks. Esimene ja kolmas veerand on ümbritsetud seintega ja moodustavad suletud alad, teisel ja neljandal veerandil seinad puuduvad ning need moodustavad avatud alad. Avatud alad on omakorda joontega jagatud kolmeks osaks. Katseseade asetseb maapinnast 72 cm kõrgusel ning oli 105 cm läbimõõduga, kusjuures sõõri laius oli 10 cm ja seinte kõrgus suletud aladel 28 cm. Avatud aladel olid 1 cm kõrgused seinad, et vältida roti kukkumist. Iga katseloom läbis testi ühe korra ning viibis nullpuuris 5 minutit. Testi alguses asetati loom suletud alasse ning mõõdeti aega, mis kulus rotil avatud alasse sisenemiseks (latents), avatud alas veedetud aega ning liikumisaktiivsust avatud alas, mida hinnati jooneületuste arvu järgi. Iga katselooma järel puhastati puur märja majapidamispaberiga.

### **Avarväli**

Avarväli on klassikaline ärevusmõõdik närilistel (Prut & Belzung, 2003). Testi läbiviimiseks kasutati ruudukujulist pealt avatud kasti mõõtmetega 78x78x34. Looma käitumise hindamiseks jagati kast kolmeks mõtteliseks osaks: tsenter, nurgad ja seinaga külgnevad alad. Katse alguses asetati rott ühte nurka ja tema tegevus kastis salvestati 10 minuti jooksul. Tulemusi skooriti automaatselt tarkvaraga EthoVision XT8, manuaalselt skooriti üle tsentrisse sisenemised ning tagakäppadele tõusmised (*rearing*). Iga katselooma järel puhastati puur märja majapidamispaberiga.

### **Andmetöötlus**

Andmetöötluseks kasutati programmi StatView 5.0.1. Keskmiste võrdlemiseks kasutati kahefaktorilist ja vajadusel kordusmõõtmisega ANOVA-t. *Post hoc* võrdlusteks kasutati Fisheri LSD testi ning korrelatsioonide uurimiseks Pearsoni korrelatsioonikordajat. Olulisusnivooks võeti 0.05.

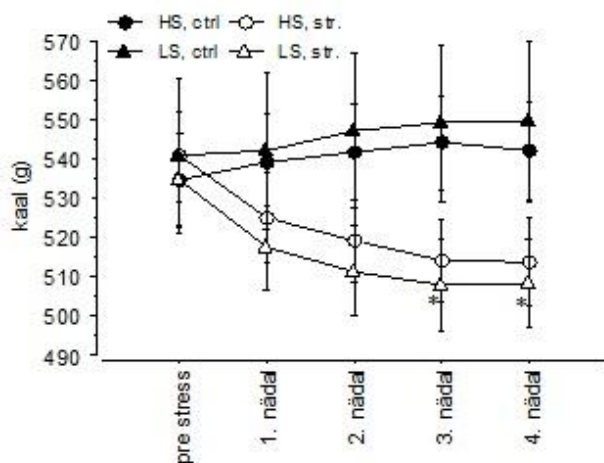
## Tulemused

### Suhkrulahuse tarbimine

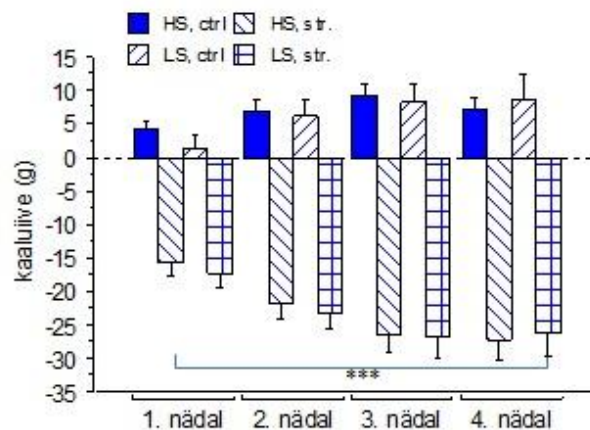
HS ja LS loomade eristamiseks viidi läbi neli suhkrutarbimise baastaseme mõõtmist. Jaotus tehti kolme viimase testi 12 h keskmise tarbimise põhjal mediaanjaotuse alusel. Esimene test jäeti jaotuse tegemisel välja, sest see ei korreleerunud nii kõrgelt kolme järgmise testiga, kuid HS/LS jaotust see oluliselt ei mõjutanud. Kolm testi korreleerusid omavahel kõrgelt,  $r(47) = .86 - .92$  ( $p < .05$  kõikidel korrelatsioonidel). HS ja LS grupid erinesid üksteisest statistiliselt olulisel määral [ $F(1,38) = 101.8$ ,  $p < .0001$ ].

### Muutused kaalus vastusena stressirežiimile

Katse alguses ei erinenud gruppide kaalud, kuid vastusena stressile hakkas katsegruppide kaal langema. Kordusmõõtmistega ANOVA näitas kaalu kordusmõõtmise efekti [ $F(4,144) = 27.4$ ,  $p < .0001$ ] ning kaalu ja stressi interaktsiooni [ $F(4,144) = 101.9$ ,  $p < .0001$ ] (Joonis 1). Fisheri LSD *post hoc* test näitas statistiliselt olulist erinevust LS stressi- ja kontrollgrupi vahel kolmandal ja neljandal stressinädalal ( $p < .05$ ), kuid kahel esimesel nädalal erinevused puudusid. Samuti puudusid olulised erinevused HS stressi- ja kontrollgrupi vahel.



Joonis 1. Muutused kaalus stressirežiimi jooksul. \*  $p < .05$  vs kontroll.



Joonis 2. Kaaluive (g) gruppide lõikes. \*\*\*  $p < .0001$  vs kontroll.

Kaalumuutuste paremaks iseloomustamiseks arvatati välja kehakaalu muutus ehk iive. Iivet ei mõjuta grupisisene suur varieeruvus ning seetõttu on ta sobivam toimunud muutuste kirjeldamiseks. Kontrollgrupi loomad võtsid jätkuvalt iganädalaselt kaalus juurde, aga stressigrupi loomade iive oli negatiivne (Joonis 2). Need erinevused olid ka statistiliselt

olulised [ $F(1,36)=170.1, p < .0001$ ]. Kontrollgrupi keskmine kaaluiive oli  $5.9 \pm 7$  g, stressigrupil aga  $-22.6 \pm 9.1$  g. Suhkrulahuse tarbimise peaeft puudus ehk HS loomade kaalu iive ei erinenud LS loomade kaalu iibest.

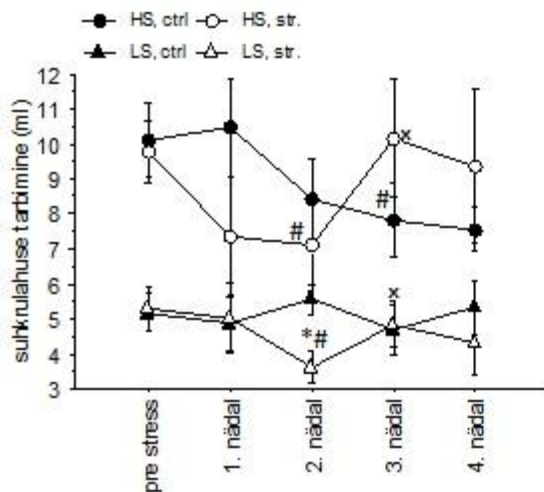
### **Muutused suhkrulahuse tarbimises**

Muutusi suhkrulahuse tarbimises jälgiti 1, 10 ja 12 h lõikes. Kordusmõõtmistega ANOVA näitas 1 h suhkrulahuse tarbimisel stressi peamõju puudumist, kuid esines 1 h suhkrutarbimise ja stressi interaktsioon [ $F(4,144)=2.9, p < .05$ ] ning 1 h suhkrutarbimise, stressi ja HS/LS gruppide interaktsioon [ $F(4,144)=2.8, p < .05$ ]. *Post hoc* testid näitasid aga, et stressigruppide ning vastavate kontrollide vahel statistiliselt olulised erinevused puudusid, v.a teisel stressinädalal, mil erinevus LS kontroll- ja stressigrupi vahel oli statistiliselt oluline ( $5.6 \pm 1.4$  ml vs  $3.6 \pm 1.4$  ml,  $p < .05$ ) (Joonis 3). Samuti puudusid erinevused HS ja LS stressigruppide vahel. HS/LS gruppide peamõju säilis läbi testimiskordade [ $F(1,36)=19.4, p < .0001$ ]. Nii HS kui ka LS stressigrupi rottide suhkrutarbimine oli võrreldes stressieelse tarbimisega teiseks stressinädalaks vähenenud statistiliselt olulisel määral [ $F(1,9)=13.1, p < .05$ ;  $F(1,9)=12.8, p < .05$ ]. Kolmandal katsenädalal tõusis sahharoositarbimine mõlemal grupil statistiliselt olulisel määral ning jõudis taas stressieelse tarbimise tasemele [ $F(1,9)=9.7, p < .05$ ;  $F(1,9)=6.5, p < .05$ ].

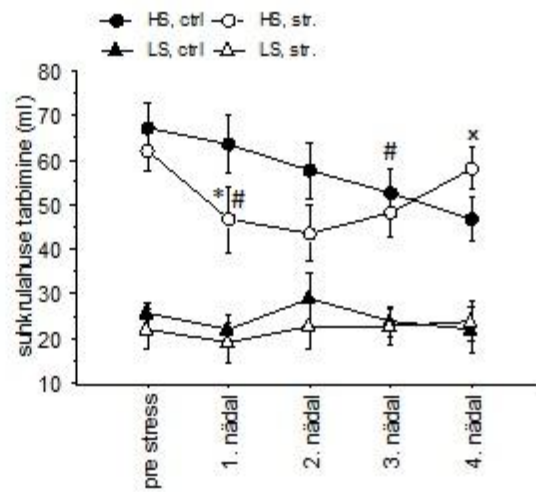
10 h suhkrutarbimisel puudus samuti stressi peamõju, kuid esines suhkrulahuse tarbimise kordusmõõtmise efekt [ $F(4,144)=4.6, p < .05$ ], suhkrulahuse tarbimise ja HS/LS gruppide interaktsioon [ $F(4,144)=5.3, p < .001$ ] ning suhkrulahuse tarbimise ja stressi interaktsioon [ $F(4,144)=5.9, p < .001$ ]. *Post hoc* testid näitasid, et ainuke erinevus katse- ja kontrollgruppide vahel esines esimesel stressinädalal, mil HS stressigrupp tarbis oluliselt vähem suhkrulahust kui vastav kontroll ( $p < .05$ ). Pärast neljandat stressinädalat oli HS stressigrupi loomade suhkrutarbimine jällegi võrreldes esimese stressinädalaga statistiliselt oluliselt suurenenud [ $F(1,9)=6.9, p < .05$ ], jõudes tagasi stressieelse tarbimise tasemele (Joonis 4). HS/LS gruppide peamõju säilis läbi testimiskordade [ $F(1,36)=49.8, p < .0001$ ].

12 h suhkrutarbimise dünaamika oli sarnane 10 h tarbimisega. Stressi peamõju puudus. Statistiline analüüs näitas suhkrulahuse tarbimise kordusmõõtmise efekti [ $F(4,144)=4.7, p < .05$ ]. Esines suhkrulahuse tarbimise ja HS/LS gruppide interaktsioon [ $F(4,144)=4.9, p < .05$ ], suhkrulahuse tarbimise ja stressi interaktsioon [ $F(4,144)=6.2, p < .001$ ] ning suhkrulahuse tarbimise, HS/LS gruppide ja stressi interaktsioon [ $F(4,144)=2.8, p < .05$ ]. HS/LS gruppide peamõju säilis läbi testimiskordade [ $F(1,36)=49.1, p < .0001$ ]. Ka 12 h lõikes esines statistiliselt oluline erinevus HS stressi- ja kontrollgrupi vahel esimesel nädalal ( $p < .05$ ).

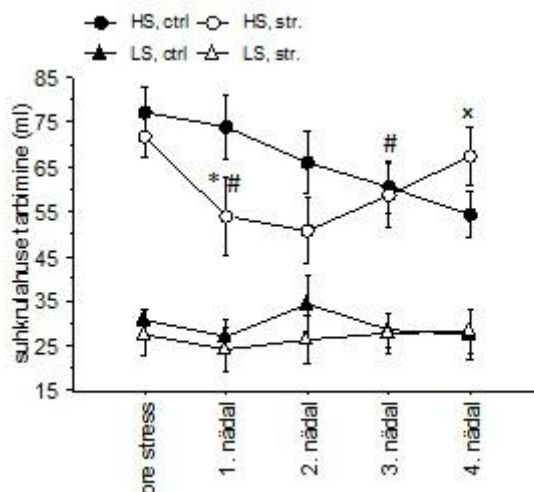
Muud erinevused katse- ja kontrollgruppide vahel puudusid. HS katsegrupi rottide suhkrutarbimine on kõige madalam pärast kahte nädalat stressi, tõustes kahe järgneva stressinäda jooksul statistiliselt olulisel määral [ $F(1,9)=12.1, p < .05$ ], saavutades stressieelse taseme (Joonis 5). LS stressigrupis nii rõhutatud muutusi ei toimunud.



Joonis 3. Muutused 1 h suhkrulahuse tarbimises stressirežiimi jooksul. \*  $p < .05$  vs kontroll, #  $p < .05$  vs pre stress, x  $p < .05$  vs 2. nädal.



Joonis 4. Muutused 10 h suhkrulahuse tarbimises stressirežiimi jooksul. \*  $p < .05$  vs kontroll, #  $p < .05$  vs pre stress, x  $p < .05$  vs 1. nädal.



Joonis 5. Muutused 12 h suhkrulahuse tarbimises stressirežiimi jooksul. \*  $p < .05$  vs kontroll, #  $p < .05$  vs pre stress, x  $p < .05$  vs 1. nädal.

HS kontrollgrupis toimus katseperioodi jooksul süstemaatiline suhkrulahuse tarbimise vähenemine nii 1, 10 kui ka 12 h lõikes. Alates teisest stressinädalast võis täheldada HS

kontrollloomade 1 h suhkrulahuse tarbimise vähenemist, mis muutus statistiliselt oluliseks kolmandal stressinädalal [ $F(1,9)=6.5, p < .05$ ]. Ka 10 ja 12 h tarbimine, mis näitasid laskuvat trendi juba esimesel stressinädalal, olid kolmandaks nädalaks statistiliselt oluliselt vähenenud [ $F(1,9)=9.1, p < .05$ ;  $F(1,9)=8.9, p < .05$ ]. LS kontrollgrupis süstemaatilisi muutusi sahharoositarbimises ei toimunud.

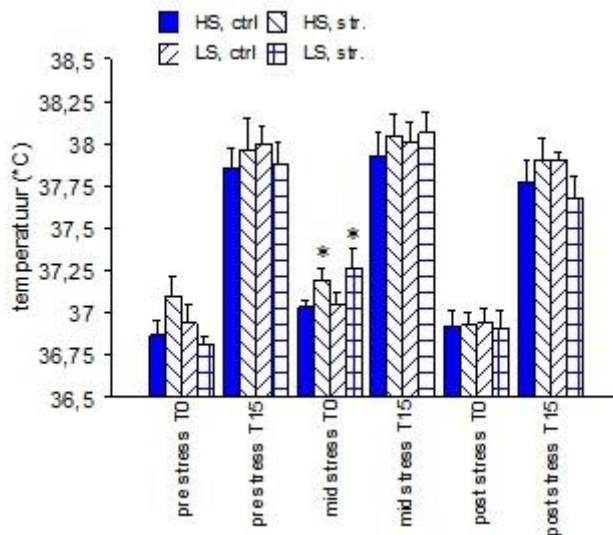
Iga roti kohta arvatati ka suhkruelistus, mida jälgiti samuti 1, 10 ja 12 h lõikes. Antud uurimuse raames ei toimunud suhkruelistuses süstemaatilisi muutusi, läbi katsekordade esines vaid HS/LS gruppide peamõju ehk HS/LS grupid erinevad suhkruelistuselt (12 h vastavalt  $91\pm 6.1\%$  ja  $76.1\pm 23.3\%$ ,  $p < .05$ ).

### **Stressist põhjustatud hüpertermia**

SPH-d mõõdeti kokku kolmel korral: vahetult enne stressirežiimi algust, selle keskel ning vahetult pärast režiimi lõppu. Esimeses SPH katses toimus kõikidel gruppidel keha süvatemperatuuri tõus, mis oli statistiliselt oluline [ $F(1,36)=222.7, p < .0001$ ]. Esimesel mõõtmiskorral, ajahetkel  $T_0$  oli loomade keskmine kehatemperatuur  $36.9\pm 0.3^\circ\text{C}$ , teisel mõõtmiskorral ( $T_{15}$ ) aga  $37.9\pm 0.4^\circ\text{C}$ . ANOVA test näitas, et puudusid erinevused HS /LS katsegruppide ja vastavate kontrollide ning ka HS/LS gruppide vahel nii ajahetkedel  $T_0$  ja  $T_{15}$  kui ka deltaT-s.

Teine mõõtmine pärast kaht nädalat stressirežiimi näitas sarnaselt esimesega statistiliselt olulist SPH vastust kõikidel gruppidel [ $F(1,36)=202, p < .0001$ ]. Lisaks leiti, et stressigrupi loomadel oli võrreldes kontrollidega oluliselt kõrgem kehatemperatuuri baastase  $T_0$  [ $F(1,36)=5.3, p < .05$ ] (Joonis 6). Kui kontrollgruppide keskmine kehatemperatuuri baastase oli  $37.0\pm 0.2^\circ\text{C}$ , siis stressigruppidel oli see  $37.2\pm 0.3^\circ\text{C}$ . Puudusid erinevused stressigruppide ja vastavate kontrollide SIH vastuses ning HS/LS gruppide vahel nii ajahetkedel  $T_0$  ja  $T_{15}$  kui ka deltaT-s.

Ka kolmandal mõõtmisel vahetult pärast stressirežiimi lõppu ehk pärast nelja nädalat CVS-i toimus kõikidel gruppidel statistiliselt oluline kehatemperatuuri tõus vastusena akuutsele stressorile [ $F(1,36)=245.5, p < .0001$ ]. SPH vastusel puudusid stressi ja suhkrulahuse tarbimise gruppide peamõjud. Ei esinenud ka suhkrulahuse tarbimise gruppide ega stressi interaktsiooni mõju.



Joonis 6. SPH vastus gruppide lõikes läbi mõõtmiskordade.

\*  $p < .05$  vs kontroll.

### Ultrahelihäälitsused uues puuris

Ultrahelihäälitsusi vastusena uuele puurile mõõdeti vahetult enne stressirežiimi algust ning vahetult pärast selle lõppu. Kahe mõõtmiskorra kudinate arv korreleerus kõrgelt,  $r = .756$  ( $p < .0001$ ). Esimesel mõõtmiskorral oli kõikide gruppide keskmine kudinate arv  $37.6 \pm 61.7$ . Puudus suhkrutarbimise taseme peamõju ehk HS ja LS loomad tegid keskmiselt sama palju 50-kHz häälitsusi.

Teisel mõõtmiskorral pärast stressirežiimi näitas ANOVA test stressi ja ka suhkrutarbimise taseme peamõju puudumist. Kõikide gruppide keskmine kudinate arv oli  $47.4 \pm 88.5$ . Kõikides gruppides võis täheldada trendi kudinate arvu suurenemise suunas, v.a LS stressigrupis, milles oli trend kudinate arvu vähenemise suunas, kuid ükski neist erinevustest ei olnud statistiliselt oluline.

### Nullpuur

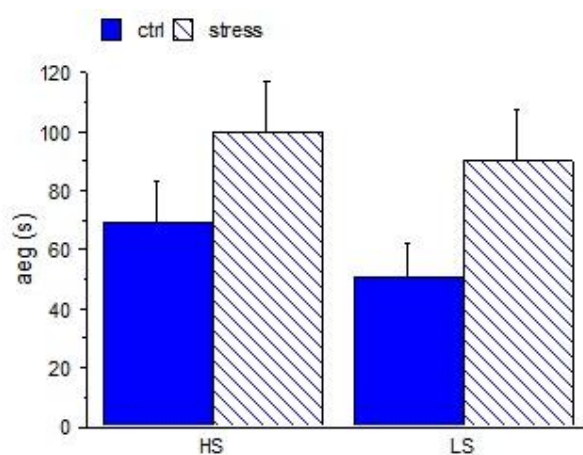
Nullpuuris käitumist analüüsiti lähtudes avatud aladesse sisenemiste arvust, avatud alas veedetud ajast ning liikumisaktiivsusest ehk jooneületuste arvust avatud alas.

Kahefaktoriline ANOVA analüüs näitas, et gruppide vahel puudusid erinevused avatud aladesse sisenemiste arvust, ehkki stressi peamõju oli peaaegu oluline ( $p = .08$ ).

Stressirežiimi läbinud loomad tegid keskmiselt  $5.7 \pm 2.8$  sisenemist ning vastavad kontrollid  $4.1 \pm 2.3$ .

Avatud alas veedetud ajal esines stressi peamõju [ $F(1,36)=5.5, p < .05$ ] ehk stress suurendas avatud alas veedetud aega (Joonis 7). Kontrollgrupi loomad veetsid avatud alas keskmiselt  $60.6 \pm 41.7$  s, samas kui stressigrupi loomadel oli sama näitaja  $97.2 \pm 49.6$  s. *Post hoc* testid näitasid aga erinevuste puudumist stressi- ja vastavate kontrollgruppide vahel. Samuti puudusid erinevused erineva suhkrutarbimise tasemega loomade vahel.

Liikumisaktiivsus avatud alas ei erinenud kontroll-ja stressigruppide vahel, ehkki ka siin oli stressi peamõju peaaegu oluline ( $p=.06$ ). Kontrollgrupid tegid avatud alas keskmiselt  $10.3 \pm 8.2$  jooneületust, stressiloomad aga  $15.9 \pm 9.6$ , kusjuures kõikide gruppide keskmine jooneületuste arv avatud alas oli  $13.1 \pm 9.3$ . Erineva suhkrutarbimise tasemega loomade vahel puudusid erinevused liikumisaktiivsuses.



Joonis 7. Nullpuuri avatud alas veedetud aeg gruppide lõikes.

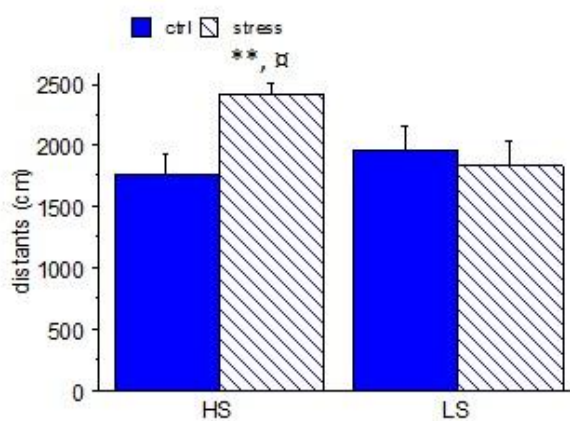
### Avarväli

Avarväljal mõõdeti eraldi liikumisaktiivsust ning ärevust. Liikumisaktiivsust hinnati väljal läbitud distantsi järgi, vertikaalset aktiivsust ehk uudistamist tagakäppadele tõusude järgi. Ärevuse hindamise aluseks olid tsentris veedetud aeg, tsentrisse tehtud sisenemiste arv ning seinäärsetel aladel veedetud aeg.

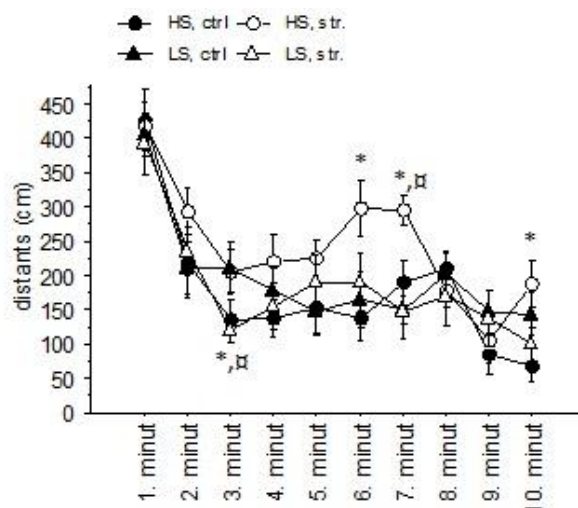
ANOVA test näitas, et avarväljal liigutud distantsil puudusid nii suhkrulahuse tarbimise taseme kui ka stressi peamõjud, kuid liigutud vahemaad mõjutas oluliselt suhkrulahuse tarbimise taseme ja stressi interaktsioon [ $F(1,36)=4.9, p < .05$ ] (Joonis 8). Fisheri LSD *post hoc* test tõi välja HS stressigrupi olulise erinevuse kontrollist ( $2423.1 \pm 313.6$  cm vs  $1759.1 \pm 552$  cm,  $p < .005$ ) ning ka LS stressigrupist ( $2423.1 \pm 313.6$  cm vs  $1839.9 \pm 639$

cm,  $p < .05$ ). LS stressigrupi ja vastava kontrolli vahel olulised erinevused puudusid, samuti ei erinenud HS ja LS kontrollgrupid teineteisest.

Ringiliigutud distantsti analüüsiti ka minutite kaupa. Kordusmõõtmistega ANOVA test näitas, et esines suhkrutarbimise taseme ja stressi interaktsioon [ $F(1,36)=4.9, p < .05$ ] ja liigutud distantsti kordusmõõtmise efekt [ $F(9,324)=26.9, p < .0001$ ] (Joonis 9). *Post hoc* testi põhjal esines oluline erinevus HS stressigrupi ja tema kontrolli vahel kuuendal, seitsmendal ja kümnendal minutil (kõikidel  $p < .05$ ), mil stressigrupp liikus oluliselt pikema distantsti kui kontrollgrupp. Seitsmendal minutil erinesid omavahel oluliselt ka HS ja LS stressigrupid – HS rotid liikusid keskmiselt  $241.9 \pm 101.6$  cm ning LS rotid  $149.7 \pm 100.1$  cm ( $p < .05$ ). LS grupid erinesid statistiliselt vaid kolmandal katseminutil, mil stressigrupp oli oluliselt vähem mobiilne kui kontrollgrupp ( $p < .05$ ). Kolmandal katseminutil oli LS stressigrupp ka oluliselt vähem mobiilne HS stressigrupist ( $p < .05$ ).



Joonis 8. Avarväljal liigutud distantsti gruppide lõikes. \*\*  $p < .005$  vs kontroll, □  $p < .05$  vs vastav HS/LS.

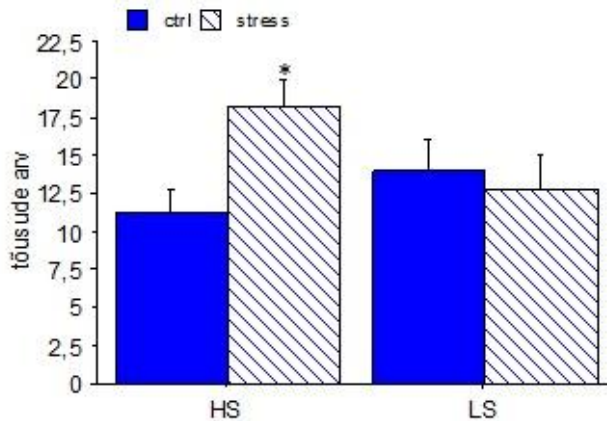


Joonis 9. Avarväljal liigutud distantsti minutite kaupa gruppide lõikes. \*  $p < .05$  vs kontroll, □  $p < .05$  vs vastav HS/LS.

Tagakäppadele tõusude arvus puudusid samuti peamõjud, kuid ilmnes suhkrolahuse tarbimise taseme ja stressi interaktsioon [ $F(1,36)=4.3, p < .05$ ]. Fisheri LSD *post hoc* testide põhjal esines oluline erinevus HS stressi- ja kontrollgrupi vahel ( $18.2 \pm 5.6$  vs  $11.2 \pm 4.8, p < .05$ ) (Joonis 10). HS stressigrupi erinevus LS stressigrupist oli peaaegu oluline ( $p=.07$ ).

Tsentris veedetud ajas ei ilmnunud gruppide vahel ühtegi erinevust. Loomad veetsid avarvälja tsentris keskmiselt  $21.7 \pm 26.8$  sekundit. Ka tsentrisse sisenemisi tegid kõik grupid keskmiselt samapalju ( $5.2 \pm 3.5$ ). Seina ääres veedetud aega analüüsides ei tulnud gruppide

vahel välja ühtki statistiliselt olulist erinevust. Keskmiselt veetsid katseloomad seinäärsetes alades  $301 \pm 124.4$  sekundit.



Joonis 10. Avarväljal tehtud tagakäppadele tõusude arv gruppide lõikes. \*  $p < .05$  vs kontroll.

### Arutelu ja järeldused

Varasemad uuringud on näidanud seost stressi ja kehakaalu muutuste vahel. Kuna peamiselt on kasutatud noori rotte, on täheldatud stressigruppide kaalutõusu aeglustumist (Faraday, 2002; Kanarik et al., 2011; Matrov, Vonk, Herm, Rinke, & Harro, 2011). Käesolevas töös kasutati täiskasvanud rotte, mistõttu oli täheldatav oluline kehakaalu langus, kusjuures kontrollgrupi loomad võtsid jätkuvalt iganädalaselt juurde. Suurim kaalulangus ilmnes pärast esimest stressinäädalat. HS ja LS rottide kaalulangus ei erinenud, mistõttu ei saa antud katse põhjal väita, et HS rotid oleksid selles kriteeriumis stressi suhtes tundlikumad kui LS rotid. Järelikult ei leidnud esimene hüpotees kinnitust.

Stressi tõttu vähenenud suhkrutarbimist on raporteeritud mitmetes uuringutes (nt Matrov et al., 2011; Qi, Lin, Li, Pan, & Wang, 2006), kuid on avaldatud ka uuringuid, milles stressi tõttu suhkrutarbimine suurenes (nt Pijlman, Wolterink, & Van Ree, 2003). Käesolevas töös oli trend suhkrulahuse tarbimise vähenemise suunas esimesel kahel nädalal, kuid statistiliselt olulised erinevused kontrollist ilmsid LS rottidel vaid 1 h tarbimisel teisel nädalal ning HS rottidel 10 ja 12 h tarbimise puhul esimesel nädalal. HS rottide suhkrutarbimise madalpunkt esines teisel nädalal. Neile andmetele toetudes võib öelda, et teine hüpotees leidis osalist kinnitust, sest HS rottide suhkrutarbimine vähenes esimesel nädalal rohkem kui LS rottidel vastusena stressile.

Suhkrulahuse tarbimise dünaamika oli huvitav nii katse- kui kontrollgruppidel. Nii 1, 10 kui ka 12 h lõikes võis täheldada, et HS stressiloomade suhkrutarbimine vähenes esimesel kahel stressinädalal olulisel määral ning näitas siis taas tõusvat trendi. LS stressiloomade suhkrutarbimises ei täheldatud nii suuri kõikumisi, v. a teisel stressinädalal, mil stressiloomad tarbisid kontrollist oluliselt vähem sahharoosi. Järelikult võib esimesel kahel stressinädalal märgata suurimaid käitumuslikke puudujääke, mis annavad alust arvata, et sel ajavahemikul oli stressi mõju suurim, kusjuures stressirežiimi algus oli häirivam just HS rottidele. HS rottide suhkrulahuse tarbimise tõus ehk taastumine pärast kaht nädalat võib viidata suurest energeetilisest puudujäägist tingitud toimetulekumehhanismide aktiveerumisele. Selline suhkrutarbimise dünaamika võib viidata HS rottide suuremale tundlikkusele stressi suhtes.

HS kontrollgrupis toimus süstemaatiline iganädalane suhkrulahuse tarbimise vähenemine, mis oli täheldatav nii 1, 10 kui ka 12 h lõikes. Kontrollgrupi suhkrulahuse tarbimine oli võrreldes stressieelse tasemega statistiliselt oluliselt vähenenud kolmandaks nädalaks. Sellist huvi kadumist sarrustava efektiga stiimuli suhtes võib seletada habitueerumisega. Siiski on huvitav, miks selline huvi kadumine toimus vaid HS grupis, kuna LS kontrollgrupis sarnaseid muutusi ei toimunud. Üks võimalik seletus on, et LS kontrollgrupis ilmnes põrandaeft, mistõttu polnud võimalik täheldada ka tarbimise langust.

Võttes kokku muutused kõikide gruppide suhkrutarbimises võiks arvata, et kuna muutused HS stressigrupis nii 1, 10 kui ka 12 h lõikes olid palju rõhutatamad kui LS stressigrupis, siis statistiliselt oluliste erinevuste puudumise põhjus mõnedes ajapunktides võib peituda just HS kontrollgrupi süstemaatiliselt väiksemas iganädalases tarbimises, mis ei lasknud erinevustel välja tulla. Käesolevas katses ei näidanud HS kontrollgrupi suhkrutarbimine nii suurt stabiilsust, nagu on näidatud varasemates katsetes (Tõnissaar et al., 2006). Tõnissaar ja kolleegid (2006) kasutasid oma eksperimendis kolme kuu vanuseid rotte, mis annab alust arvata, et sarrustava käitumise stabiilsus sõltub vanusest. Teisalt, Kanarik ja kolleegid (2010) kasutasid seitsme kuu vanuseid täiskasvanud rotte ning raporteerisid siiski märkimisväärset sahharoositarbimise stabiilsust. Käesolevas töös kasutatud katseloomad olid katse alguses ühe aasta ja kahe kuu vanused. Metodoloogilisi erinevusi Kanarik et al. (2010) tööga ei olnud, seega jääb küsimus HS kontrollgrupi suhkrulahuse tarbimise vähenemise põhjustest püsima.

Rottide SPH vastust mõõtes oli meie hüpoteesiks, et stressirežiimi tõttu on HS rotid oluliselt tundlikumad akuutse stressori suhtes kui LS rotid, mistõttu on nende SPH vastus suurem. Antud hüpotees ei leidnud kinnitust. Küll aga ilmnes, et stressigrupi loomadel oli stressirežiimi keskel (pärast kaht nädalat stressi) oluliselt kõrgem kehatemperatuuri baastase

kui kontrollgrupi loomadel. Kolmandal SPH mõõtmiskorral vahetult pärast stressirežiimi oli gruppide kehatemperatuuri baastase taas võrdne ning ei esinenud ka ühtki teist erinevust.

Muutused kaalus, suhkrulahuse tarbimises ning SPH vastuses annavad alust arvata, et stressi mõju oli suurim kahe esimese nädala jooksul, misjärel toimus habitueerumine stressiga. Selline käitumuslike ning muude näitajate mõningane taastumine ei ole ebaharilik. Ka teised autorid on raporteerinud suhkrulahuse tarbimise taastumist kroonilise stressi mudelites (vt nt Gronli et al., 2004; D'Aquila, Brain, & Willner, 1994).

Käesoleva uuringu tulemused ei toeta ettekujutust, et rottide afektiivsel reaktsioonil vastusena uudsele keskkonnale oleks alati ühene seos stressiga. Oletasime, et stressijärgselt võiksid katsegrupi loomad uues puuris vähem 50-kHz häälightsusi teha ning see efekt võiks suurem olla HS rottidel. Kahe mõõtmiskorra tulemused korreleerusid kõrgelt ning nende vahel puudusid statistiliselt olulised erinevused, järelikult ei leidnud kinnitust ka neljas hüpotees. Võimalik, et ka siin mängis rolli stressiga kohanemine, mistõttu võiks järgnevates eksperimentides uurida ultrahelihäälightsusi vastusena uuele puurile ka pärast kaht nädalat stressi, mis tundub omavat suuremat mõju loomade käitumisele.

Kahe ärevusetesti, nullpuuri ja avarvälja tulemused näitasid stressi aktiveerivat toimet katseloomadele, vastupidiselt eeldatud inhibeerivale toimele. Suurem mõju oli stressil HS loomadele, kes läbisid avarväljal nii oma kontrollgrupist kui ka LS stressigrupist pikema distantsi. HS stressigrupi rotid tegid lisaks enam tagakäppadele tõuse kui vastavad kontrollid, kusjuures ka erinevus LS stressigrupist oli peaaegu oluline. Avarväljal puudusid aga gruppidevahelised erinevused ärevuses, mida näitas erinevuste puudumine tsentris veedetud ajas ning sinna tehtud sisenemiste arvus.

Stress suurendas nullpuuri avatud alas veedetud aega, ehkki statistiliselt olulised erinevused katse- ja kontrollgruppide vahel puudusid. Stressi peamõju oli peaaegu oluline avatud aladesse sisenemiste arvus ning liikumisaktiivsuses avatud alades. Praegustele andmetele tuginedes võib väita, et viies ja kuues hüpotees ei leidnud kinnitust. Nii HS kui ka LS stressigrupid näitasid vastupidiselt eeldatule üles pigem vähenenud ärevust ning kõrgenenud aktiivsust ärevustestides.

Stressi aktiveerivat toimet käitumisele täheldasid CVS režiimi puhul ka Matrov ja kolleegid (2011), kes uurisid ka käitumise aluseks olevat neurobioloogiat ning jõudsid järeldusele, et edukas kohanemine anhedooniat põhjustavate stiimulitega võib, tõenäoliselt dopamiini D<sub>1</sub> retseptorite sensitisatsiooni tõttu *nucleus accumbens*, viia aktiivsema käitumiseni järgnevates väljakutset pakkuvates olukordades. Eespool nimetatud autorite tööle tuginedes võime järeldada, et HS ja LS rottide adaptatsioon stressile on erinevalt reguleeritud.

Käesoleva uurimistöö tulemusi kokku võttes võib öelda, et HS ja LS rottide stressitundlikkuses ei leitud olulisi püsivaid erinevusi. Suhkrutestide tulemused viitasid HS rottide suuremale tundlikkusele stressi esimestel nädalatel. Oluline erinevus HS ja LS rottide vahel ilmnis avarvälja testis, kus HS loomad näitasid üles kõrgemat liikumisaktiivsust kui LS rotid, väljendatuna pikemas läbitud distantsis ja tõusude arvus. Üldiselt on käesolevate andmete põhjal alust arvata, et HS ja LS rottidel on mõnevõrra erinev tundlikkus stressi suhtes ning nende toimetulekumehhanismid on erinevalt reguleeritud.

Antud uuringu nõrkusena tuleb välja tuua, et kuna antud uuringus kasutati täiskasvanud, mitte noori rotte, ei ole otsesed võrdlused osade sarnastel teemadel tehtud uuringutega võimalikud. Lisaks, kuna toimus märgatav habitueerumine stressiga, ei olnud võibolla kasutatav režiim parim uurimaks stressist põhjustatud käitumuslikke erinevusi. Zhang et al. (2014) näitasid, et katkendlik stressirežiim vähendab oluliselt habitueerumist ning põhjustab katseloomadel suuremad füsioloogilised ja käitumuslikud muutused. Seega võiks katkendlik stressirežiim olla sobivam uurimaks stressist tingitud erinevusi käitumises.

## Kasutatud kirjandus

- Akimova, E., Lanzenberger, R., Kasper, S. (2009). The serotonin-1A receptor in anxiety disorders. *Biological Psychiatry*, 66, 627–635.
- Alttoa, A., Kõiv, K., Hinsley, T. A., Brass, A., Harro, J. (2010). Differential gene expression in a rat model of depression based on persistent differences in exploratory activity. *European Neuropsychopharmacology*, 20, 288–300.
- Anisman, H., Zacharko, R. M. (1990). Multiple neurochemical and behavioral consequences of stressors: Implications for depression. *Pharmacology & Therapeutics*, 46, 119–136.
- Berridge, K. C. (2003). Pleasures of the brain. *Brain and Cognition*, 52, 106–128.
- Bouwknicht, J. A., Olivier, B., Paylor, R. E. (2007). The stress-induced hyperthermia paradigm as a physiological animal model for anxiety: A review of pharmacological and genetic studies in the mouse. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*, 31, 41–59.
- Brudzynski, S. M. (2001). Pharmacological and behavioral characteristics of 22 kHz alarm calls in rats. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 25, 611–617.
- Brudzynski, S. M., Pniak, A. (2002). Social contacts and production of 50-kHz short ultrasonic calls in adult rats. *Journal of Comparative Psychology*, 116, 73–82.
- Burgdorf, J., Knutson, B., Panksepp, J. (2000). Anticipation of rewarding electrical brain stimulation evokes ultrasonic vocalization in rats. *Behavioural Neuroscience*, 114, 320–327.
- Burgdorf, J., Knutson, B., Panksepp, J., Shippenberg, T. S. (2001). Evaluation of rat ultrasonic vocalizations as predictors of the conditioned aversive effects of drugs. *Psychopharmacology*, 155, 35–42.
- Clark, L. A., Watson, D. (1991). Tripartite model of anxiety and depression: psychometric evidence and taxonomic implications. *Journal of Abnormal Psychology*, 100, 316–336.
- Cryan, J. F., Kelliher, P., Kelly, J. P., Leonard, B. E. (1999). Comparative effects of serotonergic agonists with varying efficacy at the 5-HT(1A) receptor on core body temperature: Modification by the selective 5-HT(1A) receptor antagonist WAY 100635. *Journal of Psychopharmacology*, 13, 278–283.
- D'Aquila, P. S., Brain, P., Willner, P. (1994). Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression. *Physiology & Behaviour*, 56, 861–867.
- DeSousa, N. J., Bush, D. E., Vaccarino, F. J. (2000). Self-administration of intravenous amphetamine is predicted by individual differences in sucrose feeding in rats. *Psychopharmacology*, 148, 52–58.

- DeSousa, N. J., Wunderlich, G. R., De Cabo, C., Vaccarino, F. J. (1998). Individual differences in sucrose intake predict behavioral reactivity in rodent models of anxiety. *Pharmacology Biochemistry and Behaviour*, 60, 841–846.
- Duncko, R., Schwendt, M., Jezova, D. (2003). Altered glutamate receptor and corticoliberin gene expression in brain regions related to hedonic behavior in rats. *Pharmacology Biochemistry Behaviour*, 76, 9–16.
- Faraday, M. M. (2002). Rat sex and strain differences in responses to stress. *Physiology & Behavior*, 75, 507.
- Forbes, E. E., Dahl, R. E. (2005). Neural systems of positive affect: relevance to understanding child and adolescent depression? *Development and Psychopathology*, 17, 827–850.
- Gosnell, B. A. (2000). Sucrose intake predicts rate of acquisition of cocaine selfadministration. *Psychopharmacology (Berl.)*, 149, 286–292.
- Gosnell, B. A., Krahn, D. D. (1992). The relationship between saccharin and alcohol intake in rats. *Alcohol*, 9, 203–206.
- Gosnell, B. A., Mitra, A., Avant, R. A., Anker, J. J., Carroll, M. E., Levine, A. S. (2010). Operant responding for sucrose by rats bred for high or low saccharin consumption. *Physiology & Behaviour*, 99, 529–533.
- Gronli, J., Murison, R., Bjorvatn, B., Sorensen, E., Portas, C. M., Ursin, R. (2004). Chronic mild stress affects sucrose intake and sleep in rats. *Behavioural Brain Research*, 150, 139–147.
- Harro, J. (2010). Inter-individual differences in neurobiology as vulnerability factors for affective disorders: Implications for psychopharmacology. *Pharmacology & Therapeutics*, 125, 402–422.
- Hill, M. N., Hellemans, K. G. C., Verma, P., Gorzalka, B. B., Weinberg, J. (2012). Neurobiology of chronic mild stress: Parallels to major depression. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36, 2085–2117.
- Kanarik, M., Alftoa, A., Matrov, D., Kõiv, K., Sharp, T., Panksepp, J., Harro, J. (2011). Brain responses to chronic social defeat stress: Effects on regional oxidative metabolism as a function of a hedonic trait, and gene expression in susceptible and resilient rats. *European Neuropsychopharmacology*, 21, 92–107.
- Kendler, K. S., Kessler, R. C., Walters, E. E., MacLean, C., Neale, M. C., Heath, A. C., Eaves, L. J. (1995). Stressful life events, genetic liability, and onset of an episode of major depression in women. *American Journal of Psychiatry*, 152, 833–842.

- Keskitalo, K., Knaapila, A., Kallela, M., Palotie, A., Wessman, M., Sammalisto, S., Peltonen, L., Tuorila, H., Perola, M. (2007a). Sweet taste preferences are partly genetically determined: identification of a trait locus on chromosome 16. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 86, 55–63.
- Keskitalo, K., Tuorila, H., Spector, T. D., Cherkas, L. F., Knaapila, A., Silventoinen, K., Perola, M. (2007b). Same genetic components underlie different measures of sweet taste preference. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 86, 1663–1669.
- Kieran, N., Ou, X. M., Iyo, A. H. (2010). Chronic social defeat downregulates the 5-HT1A receptor but not Freud-1 or NUDR in the rat prefrontal cortex. *Neuroscience Letters*, 469, 380–384.
- Knutson, B., Burgdorf, J., Panksepp, J. (1999). High-frequency ultrasonic vocalizations index conditioned pharmacological reward in rats. *Physiology & Behaviour*, 66, 639–643.
- Kõiv, K., Harro, J. (2010). Differences in 5-HT1A receptor-mediated hypothermia in rats with low or high exploratory activity. *Behavioural Pharmacology*, 21, 765–768.
- Lanfumeey, L., Mongeau, R., Cohen-Salmon, C., Hamon, M. (2008). Corticosteroid-serotonin interactions in the neurobiological mechanisms of stress-related disorders. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*, 32, 1174–1184.
- Lesch, K. P., Gutknecht, L. (2004). Focus on The 5-HT1A receptor: emerging role of a gene regulatory variant in psychopathology and pharmacogenetics. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 7, 381–385.
- Lin, M. T., Tsay, H. J., Su, W. H., Chueh, F. Y. (1998). Changes in extracellular serotonin in rat hypothalamus affect thermoregulatory function. *American Journal of Physiology*, 274, R1260–R1267.
- Lohoff, F. W. (2010). Overview of the genetics of major depressive disorder. *Current Psychiatry Reports*, 12, 539–546.
- Lopez, J. F., Chalmers, D. T., Little, K. Y., Watson, S. J. (1998). A.E. Bennett Research Award. Regulation of serotonin1A, glucocorticoid, and mineralocorticoid receptor in rat and human hippocampus: implications for the neurobiology of depression. *Biological Psychiatry*, 43, 547–573.
- Martinetti, M. P., Khan, Z., Lewis, M. J. (2007). Matching law choice analyses of ethanol and sucrose consumption in alcohol-preferring (P), nonpreferring (NP), and Sprague–Dawley (SD) rats. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 31, 1338–1348.

- Matrov, D., Vonk, A., Herm, L., Rincken, A., Harro, J. (2011). Activating effects of chronic variable stress in rats with different exploratory activity: association with dopamine d(1) receptor function in nucleus accumbens. *Neuropsychobiology*, 64, 110-122.
- Moreau, J. L. (2002). Simulating the anhedonia symptom of depression in animals. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 4, 351-360.
- Morilak, D. A., Frazer, A. (2004). Antidepressants and brain monoaminergic systems: A dimensional approach to understanding their behavioural effects in depression and anxiety disorders. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 7, 193-218.
- Mällo, T., Matrov, D., Herm, L., Kõiv, K., Eller, M., Rincken, A., Harro, J. (2007). Tickling-induced 50-kHz ultrasonic vocalization is individually stable and predicts behaviour in tests of anxiety and depression in rats. *Behavioural Brain Research*, 184, 57-71.
- Mällo, T., Matrov, D., Kõiv, K., Harro, J. (2009). Effect of chronic stress on behaviour and cerebral oxidative metabolism in rats with high or low positive affect. *Neuroscience*, 164, 963-974.
- Panksepp, J., Knutson, B., Burgdorf, J. (2002). The role of brain emotional systems in addictions: A neuro-evolutionary perspective and new "self-report" animal model. *Addiction*, 97, 459-469.
- Peet, K. (2013). Kroonilise sotsiaalse stressi mõju erineva uudistamisfenotüübiga rottidele. Alla laetud leheküljelt <http://dspace.utlib.ee/dspace/handle/10062/24340>
- Pijlman, F. A., Wolterink, G., van Ree, J. M. (2003). Physical and emotional stress have differential effects on preference for saccharine and open field behaviour in rats. *Behavioural Brain Research*, 139, 131-138.
- Portfors, C. V. (2007). Types and functions of ultrasonic vocalizations in laboratory rats and mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 46, 28-34.
- Pothion, S., Bizot, J.-C., Trovero, F., Belzung, C. (2004). Strain differences in sucrose preference and in the consequences of unpredictable chronic mild stress. *Behavioural Brain Research*, 155, 135-146.
- Prut, L., Belzung, C. (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: A review. *European Journal of Pharmacology*, 463, 3-33.
- Qi, X., Lin, W., Li, J., Pan, Y., Wang, W. (2006). The depressive-like behaviors are correlated with decreased phosphorylation of mitogen-activated protein kinases in rat brain following chronic forced swim stress. *Behavioural Brain Research*, 175, 233-240.

- Schwarting, R. K., Jegan, N., Wöhr, M. (2007). Situational factors, conditions and individual variables which can determine ultrasonic vocalizations in male adult Wistar rats. *Behavioural Brain Research*, 182, 208–222.
- Seligman, M. E., Csikszentmihalyi, M. (2000). Positive psychology. An introduction. *American Psychologist*, 55, 5–14.
- Sinclair, J. D., Kampov-Polevoy, A., Stewart, R., Li, T. K. (1992). Taste preferences in rat lines selected for low and high alcohol consumption. *Alcohol*, 9, 155–160.
- Strekalova, T., Steinbusch, H. W. M. (2010). Measuring behavior in mice with chronic stress depression paradigm. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, 34, 348–361.
- Tõnissaar, M., Herm, L., Rincken, A., Harro, J. (2006). Individual differences in sucrose intake and preference in the rat: Circadian variation and association with dopamine D2 receptor function in striatum and nucleus accumbens. *Neuroscience Letters*, 403, 119–124.
- Vinkers, C., van Bogaert, M., Klanker, M., Korte, S., Oosting, R., Hanania, T., Hopkins, S. C., Olivier, B., Groenink, L. (2008). Translational aspects of pharmacological research into anxiety disorders: the stress-induced hyperthermia (SIH) paradigm. *European Journal of Pharmacology*, 585, 407–425.
- Watanabe, Y., Sakai, R. R., McEwen, B. S., Mendelson, S. (1993). Stress and antidepressant effects on hippocampal and cortical 5-HT<sub>1A</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors and transport sites for serotonin. *Brain Research*, 615, 87–94.
- Willner, P. (1997). Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: A 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology (Berl.)*, 134, 319–329.
- Willner, P. (2005). Chronic mild stress (CMS) revisited: Consistency and behavioural neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology*, 52, 90–110.
- Willner, P., Scheel-Krüger, J., Belzung, C. (2013). The neurobiology of depression and antidepressant action. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37, 2331–2371.
- World Health Organization. (1992). *The ICD-10 classification of mental and behavioural disorders: Clinical descriptions and diagnostic guidelines*. Geneva: World Health Organization.
- World Health Organization. (2012). Depression: A global public health concern. Alla laetud leheküljelt

[http://www.who.int/mental\\_health/management/depression/who\\_paper\\_depression\\_wf\\_mh\\_2012.pdf](http://www.who.int/mental_health/management/depression/who_paper_depression_wf_mh_2012.pdf)

Zhang, W., Hetzel, A., Shah, B., Atchley, D., Blume, S. R., Padival, M. A., Rosenkranz, J. A. (2014). Greater physiological and behavioral effects of interrupted stress pattern compared to daily restraint stress in rats. PloS One, 9(7). Alla laetud leheküljelt <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0102247>

Käesolevaga kinnitan, et olen korrekselt viidanud kõigile oma töös kasutatud teiste autorite poolt loodud kirjalikele töödele, lausetele, mõtetele, ideedele või andmetele.

Olen nõus oma töö avaldamisega Tartu Ülikooli digitaalarhiivis DSpace.

Cristina Kroon