

# НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

DOI: 10.30906/0869-2092-2023-86-9-3-6

## ВЛИЯНИЕ ДАЛАРГИНА НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ БЕЛЫХ КРЫС В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА

А. А. Цибилова, М. У. Сергалиева\*, Т. А. Кринцова, М. А. Самотруева<sup>1</sup>

Исследование посвящено изучению влияния опиоидного нейропептидного средства даларгина на поведенческие реакции белых крыс с экспериментальным сахарным диабетом в тесте “Порсолт” и “Открытое поле”. Эксперименты проведены на белых нелинейных крысах-самцах 8-месячного возраста в количестве 30 особей. Животные были разделены на 3 группы ( $n = 10$ ): I группа — контрольные особи; II группа — животные с аллоксановым диабетом; III группа — особи с сахарным диабетом, получавшие внутривенно даларгин в дозе 100 мкг/кг/сут в течение 30 дней, начиная с 21 дня после введения аллоксана. Сахарный диабет моделировали путем введения аллоксана в дозе 100 мкг/кг однократно. Для подтверждения формирования сахарного диабета состояние экспериментальных животных оценивали по следующим показателям: наличие полидипсии и повышенного аппетита, уровень гликемии. На пятые сутки после введения аллоксана было отмечено увеличение количества выпитой жидкости и съеденного корма крысами в группах II и III. На седьмые сутки средний уровень гликемии у этих животных находился в интервале от 10 до 15 ммоль/л; на 14 день — 21 ммоль/л; на 21 день эксперимента — 23 ммоль/л. На фоне гипергликемии у крыс развивалось тревожно-депрессивное состояние, подтверждением чего явилось увеличение времени неподвижности, пассивного плавания в 7 и 42 раза ( $p \leq 0,01$ ), снижение латентного периода до иммобильности и времени активного плавания в 4,4 и 1,7 раза ( $p \leq 0,01$ ) в тесте “Порсолт”; увеличение таких показателей, как горизонтальная двигательная активность, исследование “норок”, фризинга и груминга в 1,35, 1,8, 1,67 и 4,5 ( $p \leq 0,01$ ) раза, соответственно, а также уменьшение количества болюсов в 2 раза ( $p \leq 0,05$ ) в тесте “Открытое поле”. Результаты влияния даларгина на поведенческие реакции животных в условиях экспериментального сахарного диабета показали наличие у исследуемого соединения антидепрессивного действия, выражающегося в коррекции тревожно-депрессивного состояния, что проявлялось в восстановлении показателей двигательной и ориентировочно-исследовательской активности животных: в тесте “Порсолт” увеличение латентного периода до первой иммобилизации и времени активного плавания в 1,25 раза ( $p \leq 0,01$ ) и снижение времени пассивного плавания в 1,5 раза ( $p \leq 0,01$ ); в тесте “Открытое поле” снижение частоты актов груминга в 1,3 ( $p \leq 0,05$ ) раза и горизонтальной и вертикальной активности в 1,28 и 1,83 ( $p \leq 0,01$ ) раза, соответственно, увеличение количества болюсов в 1,7 ( $p \leq 0,01$ ) раза.

**Ключевые слова:** нейропептиды; даларгин; экспериментальный сахарный диабет; тест “Порсолт”; тест “Открытое поле”; антидепрессивная активность; крысы.

### ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время наиболее важной проблемой эндокринологии является терапия сахарного диабета (СД), скорость распространения которого приняла эпидемический характер. Тяжесть СД заключается в развитии осложнений, опосредованных абсолютной или относительной инсулиновой недостаточностью. Наиболее опасными являются нейро- и ангиопатии, которые приводят к ранней инвалидизации пациентов с СД. Наряду с указанными патологическими изменениями, важной составляющей клинической картины СД является диабетическая энцефалопатия, прогрессирование которой приводит к развитию когнитивных и тревожно-депрессивных расстройств [17–19].

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО Астраханский государственный медицинский университет Минздрава России, Россия, 414000, Астрахань, ул. Бакинская, 121.

\* e-mail: charlina astr@mail.ru

Разработка новых подходов и средств коррекции микро-, макроциркуляторных и неврологических нарушений является необходимой для профилактики тяжелых осложнений и улучшения качества жизни пациентов с СД. В качестве перспективных лекарственных средств (ЛС) коррекции указанных нарушений интерес вызывают нейропептиды семейства опиоидных пептидов, одним из которых является даларгин — синтетический аналог регуляторного нейропептида лейцин-энкефалина, представляющий собой гексапептид Туг-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg [14]. Первоначально даларгин рассматривался как ЛС, угнетающее ферментативную желудочную и панкреатическую секрецию [2]. Позже было установлено, что даларгин, являясь неселективным агонистом  $\mu$ - и  $\delta$ -опиоидных рецепторов, обладает широким спектром фармакологической активности (иммуномодулирующая, анальгетическая, антиоксидантная, метаболическая, репаративная и др.) [7, 9, 12, 13]. Установлены органопротекторные свой-

ства даларгина [20]. Доказано, что введение этого ЛС приводит к улучшению транскапиллярного обмена жидкости в легких, угнетению процессов перекисного окисления липидов в печени и сердце, что определяет гепато- и кардиопротекторное действие [15]. Принимая во внимание тот факт, что опиоидные рецепторы широко распространены как в структурах головного мозга, так и во всех висцеральных органах, в том числе поджелудочной железе, становится очевидно, что даларгин способен оказывать многофакторное влияние не только на регуляцию секреторных процессов, но и на процессы нейроэндокринной взаимосвязи [3, 5]. Несмотря на наличие подробной информации о спектре фармакологического действия препарата, в том числе и стресспротекторного, исследований, характеризующих влияние даларгина на психофизиологические процессы в условиях экспериментального СД, недостаточно.

В связи с чем целью данной работы явилось изучение влияния даларгина на поведенческие реакции белых крыс в тестах “Порсолт” и “Открытое поле” в условиях экспериментального СД.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на белых нелинейных крысах-самцах 8-месячного возраста в количестве 30 особей, полученных из экспериментально-биологической клиники Научно-исследовательского центра ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России. Животные были разделены на 3 группы ( $n = 10$ ): группа I — контрольные особи; группа II — животные с экспериментальным СД, вызванным внутрибрюшинным введением аллоксана (100 мг/кг однократно); III группа — особи с СД, получавшие внутрибрюшинно даларгин в дозе 100 мг/кг/сут в течение 30 дней, начиная с 21 дня после введения аллоксана.

Поведенческие реакции крыс оценивали с помощью тестов “Порсолт” и “Открытое поле”. Тест “Порсолт” применяли с использованием установки в виде стеклянного сосуда, наполненного на 2/3 водой ком-

натной температуры [11]. Крыс помещали в установку и в течение 5 мин оценивали показатели теста. Уровень депрессивности оценивали по следующим параметрам: время активного и пассивного плавания; латентный период (ЛП) до первого движения; латентное время до проявления первой иммобилизации; время иммобилизации.

Тест “Открытое поле” проводили, используя круглую арену белого цвета, в стандартных условиях освещенности в течение 3 мин [8]. Двигательную и исследовательскую активность оценивали по следующим параметрам: горизонтальная и вертикальная двигательная активность, исследование “норок”, переходы через центр, фризинг, груминг, количество болюсов.

Содержание глюкозы в свежей цельной крови, взятой из хвостовой вены крысы, определяли на 3, 5, 7, 14 и 21 сут после введения аллоксана, с помощью портативной системы контроля уровня глюкозы “OneTouch Select” (LifeScan Europe GmbH International, Швейцария).

Статистическую обработку данных осуществляли при помощи пакета программы “Statistica 6.0” с учетом критерия Манна–Уитни. Различия между группами признавали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для подтверждения формирования СД состояние животных оценивали на 3, 5, 7, 14 и 21 день после введения аллоксана по следующим показателям: наличие полидипсии и повышенного аппетита, уровень гликемии. На 5 сут после введения аллоксана было отмечено увеличение количества выпитой жидкости и съеденного корма крысами в группах II и III в среднем на 30%. На 7 сут средний уровень гликемии в группах находился в интервале от 10 до 15 ммоль/л; на 14 день — 21 ммоль/л; на 21 день эксперимента — 23 ммоль/л. Уровень глюкозы крови измеряли в утренние часы, до приема корма животными. Все полученные результаты отличались от показателей крыс контрольной группы.

Результаты оценки поведенческих реакций животных в тесте “Порсолт” в условиях экспериментального СД представлены в табл. 1.

Развитие СД сопровождалось увеличением времени иммобильности и пассивного плавания крыс в 7 и 42 ( $p \leq 0,01$ ) раз соответственно в тесте “Порсолт”, в сравнении с контролем. Отмечено уменьшение латентного периода до первой иммобильности и периода активного плавания в 4,4 ( $p \leq 0,01$ ) и 1,7 ( $p \leq 0,05$ ) раза соответственно, по отношению к интактным животным.

На фоне введения даларгина в сравнении с группой животных с СД наблюдались следующие изменения: увеличение латентного периода до первой иммобильности и времени активного плавания в среднем на 25% ( $p \leq 0,01$ ); снижение времени пассивного плавания на 51% ( $p \leq 0,01$ ). Длительность латентного периода и время иммобильности остались практически неизменными.

В ходе проведенного эксперимента при оценке поведения крыс в тесте “Порсолт” было установлено,

Таблица 1. Влияние даларгина на поведенческие реакции белых крыс с СД в тесте “Порсолт” 5 мин ( $M \pm m$ )

Поведенческие показатели	Экспериментальные группы		
	Контроль	СД	СД + даларгин
ЛП до первого движения, с	2,32 ± 0,12	2,6 ± 0,2	2,58 ± 0,20
ЛП до первой иммобильности, с	273,37 ± 20,31	62,5 ± 2,1 <sup>##</sup>	78,63 ± 4,66 <sup>**</sup>
Иммобильность, с	2,58 ± 0,32	18,2 ± 2,1	21,63 ± 2,52
Пассивное плавание, с	2,57 ± 0,24	107,0 ± 13,2 <sup>##</sup>	59,45 ± 3,21 <sup>**</sup>
Активное плавание, с	293,18 ± 21,63	174,7 ± 15,1 <sup>#</sup>	220,30 ± 15,71 <sup>*</sup>

Примечания: ЛП — латентный период; \*, \*\*  $p \leq 0,05$ ,  $p \leq 0,01$  относительно контроля; #, ##  $p \leq 0,05$ ,  $p \leq 0,01$  относительно животных с СД.

что даларгин на фоне СД ослаблял проявления тревожно-депрессивного характера, проявляющееся в уменьшении времени пассивного плавания и увеличении ЛП до первой иммобильности и времени активного плавания.

Результаты оценки поведенческих реакций животных в тесте “Открытое поле” в условиях СД представлены в табл. 2.

Формирование СД сопровождалось увеличением горизонтальной двигательной активности, исследований “норок”, груминга и фризинга в сравнении с контрольной группой животных в 1,35 ( $p \leq 0,05$ ), 1,79 ( $p \leq 0,01$ ), 1,15 ( $p \geq 0,05$ ), 4,5 ( $p \leq 0,01$ ), 1,67 ( $p \leq 0,05$ ) раза, соответственно; количество болюсов уменьшилось практически в 2 ( $p \leq 0,05$ ) раза, что свидетельствует о проявлении тревожности.

Введение даларгина вызывало увеличение таких показателей, как горизонтальная и вертикальная двигательная активность, количество болюсов, переходы через центр на 28 % ( $p \leq 0,05$ ), 83 % ( $p \leq 0,01$ ), 30 % ( $p \leq 0,05$ ) и 70 % ( $p \leq 0,01$ ), соответственно в сравнении с группой животных с СД; груминговые реакции уменьшились на 29 % ( $p \leq 0,05$ ); показатели “исследование норок” и фризинг остались практически неизменными, что свидетельствует о снижении проявлений тревожных реакций в поведении животных.

Результаты исследования поведенческих реакций лабораторных животных в условиях СД сопоставимы с результатами других исследований. Установлено, что на фоне гипергликемии развивалось тревожно-депрессивное состояние, подтверждением которого являлось удлинение времени иммобильности, пассивного плавания и снижение активного плавания в тесте “Порсолт”, а также увеличение времени фризинга и актов груминга в тесте “Открытое поле”.

Оценка влияния даларгина на поведенческие реакции животных в условиях СД показала наличие у исследуемого ЛС антидепрессивного эффекта, выражающегося в коррекции тревожно-депрессивного состояния, что проявлялось в восстановлении показателей двигательной и ориентировочно-исследовательской активности животных в поведенческих тестах. В свое время было показано, что применение даларгина приводит к статистически значимому повышению

уровня эндогенного  $\beta$ -эндорфина и, как результат, к уменьшению выраженности тревожно-депрессивных проявлений, однако только в отношении реактивных невротических депрессивных состояний [1, 4, 10]. Установлено, что даларгин реализует свое действие за счет активации периферических  $\mu$ - и  $\delta$ -опиоидных рецепторов и инициации каскада реакций, приводящих к стабилизации неспецифической митохондриальной поры, стимулируя тем самым механизмы адаптации и выживаемость организма в экстремальных условиях, обеспечивая в том числе и антидепрессивный эффект [6].

Необходимость исследования возможной антидепрессивной активности даларгина в условиях СД связана с высокой частотой возникновения депрессивно-подобных изменений, развивающихся на фоне гипергликемии. Основные механизмы реализации депрессивных состояний связывают с развитием окислительного стресса и нейровоспаления, а также снижением экспрессии глиального нейротрофического фактора и нейротрофического фактора мозга, уровень которых значительно уменьшается при развитии психических расстройств, в том числе и депрессии [16, 21].

Таким образом, результаты изучения влияния даларгина на поведенческие реакции крыс указывают на наличие у него антидепрессивной активности на фоне аллоксанового СД, что свидетельствует о необходимости дальнейших детальных исследований фармакологической активности данного ЛС в условиях эндокринной патологии.

## ВЫВОДЫ

1. На фоне гипергликемии у крыс развивалось тревожно-депрессивное состояние, подтверждением чего явилось увеличение времени неподвижности, пассивного плавания в 7 и 42 раза ( $p \leq 0,01$ ), снижение латентного периода до иммобильности и времени активного плавания в 4,4 и 1,7 раза ( $p \leq 0,01$ ) в тесте “Порсолт”; увеличение таких показателей, как горизонтальная двигательная активность, исследование “норок”, фризинга и груминга в 1,35, 1,8, 1,67 и 4,5 ( $p \leq 0,01$ ) раза, соответственно, а также уменьшение количества болюсов в 2 раза ( $p \leq 0,05$ ) в тесте “Открытое поле”.

Таблица 2. Влияние даларгина на поведенческие реакции белых крыс с СД тесте “Открытое поле” ( $M \pm m$ )

Поведенческие показатели	Экспериментальные группы		
	Контроль	СД	СД + даларгин
Горизонтальная двигательная активность	20,71 $\pm$ 1,53	28,00 $\pm$ 3,01*	35,9 $\pm$ 2,4 <sup>#</sup>
Исследование “норок”	1,52 $\pm$ 0,36	2,72 $\pm$ 0,10**	2,6 $\pm$ 0,4
Вертикальная двигательная активность (раз в мин)	5,24 $\pm$ 0,71	6,02 $\pm$ 0,72	11,0 $\pm$ 1,5 <sup>#</sup>
Груминг (раз в мин)	1,00 $\pm$ 0,20	4,65 $\pm$ 0,32**	3,3 $\pm$ 0,56 <sup>#</sup>
Фризинг, с	3,01 $\pm$ 0,30	5,03 $\pm$ 0,62*	5,0 $\pm$ 0,7
Переходы через центр (раз)	0	0	0,7 $\pm$ 0,1 <sup>##</sup>
Количество болюсов (шт.)	2,58 $\pm$ 0,42	1,31 $\pm$ 0,30*	1,7 $\pm$ 0,2

Примечания: \*, \*\*  $p \leq 0,05$ ,  $p \leq 0,01$  относительно контроля; <sup>#</sup>, <sup>##</sup>  $p \leq 0,05$ ,  $p \leq 0,01$  относительно животных с СД.

2. Результаты влияния даларгина на поведенческие реакции животных в условиях экспериментального сахарного диабета показали наличие у исследуемого соединения антидепрессивного действия, выражающегося в коррекции тревожно-депрессивного состояния, что проявлялось в восстановлении показателей двигательной и ориентировочно-исследовательской активности животных: в тесте “Порсолт” увеличение латентного периода до первой иммобилизации и времени активного плавания в 1,25 раза ( $p \leq 0,01$ ) и снижение времени пассивного плавания в 1,5 раза ( $p \leq 0,01$ ); в тесте “Открытое поле” снижение частоты актов груминга в 1,3 ( $p \leq 0,05$ ) раза и горизонтальной и вертикальной активности в 1,28 и 1,83 ( $p \leq 0,01$ ) раза, соответственно, увеличение количества болюсов в 1,7 ( $p \leq 0,01$ ) раза.

## ЛИТЕРАТУРА

3. В. Боброва, К. А. Пурсанов, А. Е. Хомутов, *Биолог. журн.*, **4**, 4 – 7 (2019).
- С. А. Булгаков, *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол.*, **26**(3), 103 – 112 (2016).
- А. В. Вьюшина, А. В. Притворова, О. Г. Семенова и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **82**(10), 13 – 18 (2019).
- А. В. Донцов, *Человек и его здоровье*, **1** (2016).
- А. Н. Курзанов, *Современные проблемы науки и образования*, **6** (2011).
- В. В. Лихванцев, О. А. Гребенчиков, А. А. Шапошников и др., *Общая реаниматол.*, **8**(3), 51 – 55 (2012).
- А. Г. Мирошниченко, Р. М. Рахманов, М. А. Большакова и др., *Вестн. анестезиол. и реаниматол.*, **2**, (2021).
- В. Х. Мурталиева, А. А. Цибизова, М. У. Сергалиева и др., *Дальневосточный мед. журн.*, **3**, 40 – 46 (2022); doi: 10.35177 / 1994-5191-2022-3-7
- А. А. Носков, Д. И. Зиннагуллина, А. И. Трофименко, А. Ю. Туровая, *Актуальные вопросы медицины в современных условиях: Матер. III Междунар. науч.-практ. конф. (Санкт-Петербург, 11 января 2017 г.)*, Инновационный центр развития образования и науки, Санкт-Петербург (2017), сс. 59, 60.
- О. Г. Семенова, А. В. Вьюшина, А. В. Притворова и др., *Журн. высшей нервной деятел. им. И. П. Павлова*, **71**(5), 680 – 689 (2021); doi: 10.31857 / S0044467721050099
- М. У. Сергалиева, А. А. Цибизова, Э. И. Абдулкадырова и др., *Астраханский мед. журнал*, **16**(2), 53 – 61 (2021); doi: 10.17021 / 2021.16.2.53.61
- М. Ю. Смахтин, Ю. В. Фурман, *Актуальные проблемы общества, науки и образования: современное состояние и перспективы развития: Матер. III Междунар. науч.-практ. конф. (Курск, 12 – 13 февраля 2016 г.)* / под ред. Ю. В. Фурмана, Т. Б. Белозеровой, Е. П. Непочатых, Перо, Москва (2016), сс. 472 – 475.
- М. Ю. Смахтин, А. А. Чуланова, А. М. Смахтина, А. В. Шумакова, *Современная медицина новые подходы и актуальные исследования: Матер. Междунар. науч.-практ. конф., посвященной 30-летию юбилею Медицинского института ФГБОУ ВО “Чеченский государственный университет” (Грозный, 22 октября 2020 г.)*, Чеченский гос. ун-т им. Ахмата Абдулхамидовича Кадырова, Грозный (2020), сс. 581 – 584.
- В. Х. Хавинсон, И. Г. Попович, Г. А. Рыжак и др., *Патогенез*, **19**(1), 19 – 29 (2021); doi: 10.25557 / 2310-0435.2021.01.19-29
- С. Ю. Цибульников, А. В. Мухомедзянов, Л. Н. Маслов и др., *Хим.-фарм. журн.*, **52**(4), 3 – 6 (2018).
- S. R. Vampi, A. M. Casaril, M. Domingues, et al., *J. Psychiatr. Res.*, **120**, 91 – 102 (2020); doi: 10.1016 / j.jpsychires.2019.10.003
- T. R. Einarson, A. Acs, C. Ludwig, U. H. Panton, *Cardiovasc. Diabetol.*, **17**(1), 83 (2018); doi: 10.1186 / s12933-018-0728-6
- J. L. Harding, M. E. Pavkov, D. J. Magliano, et al., *Diabetologia*, **62**(1), 3 – 16 (2019); doi: 10.1007 / s00125-018-4711-2
- L. H. Lau, J. Lew, K. Borschmann, et al., *J. Diabetes Investig.*, **10**(3), 780 – 792 (2019); doi: 10.1111 / jdi.12932
- I. I. Shchenyavsky, O. K. Gulevsky, *Probl. Cryobiol. and Cryomed.*, **29**(3), 246 – 254 (2019).
- Y. Yang, B. Xie, C. Ju, et al., *Endocrine Practice*, **25**(9), 951 – 965 (2019); doi: 10.4158 / ep-2018-0492

Поступила 22.05.23

## THE EFFECT OF DALARGIN ON BEHAVIORAL REACTIONS OF WHITE RATS IN EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS

A. A. Tsibizova, M. U. Sergaliev\*, T. A. Krintsova, and M. A. Samotrueva

Astrakhan State Medical University of the Ministry of Health of Russia, Astrakhan, 414000 Russia

\* e-mail: charlina astr@mail.ru

The study is focused on the effect of the opioid neuropeptide drug dalargin on the behavioral responses of white rats in the “Porsolt” and “Open field” tests under conditions of experimental diabetes mellitus. The experiments were carried out on 30 individuals of white nonlinear male rats aged 8 months. The animals were divided into 3 groups ( $n = 10$ ): group I – control animals; group II – animals with alloxan diabetes; group III – animals with diabetes mellitus receiving intraperitoneal dalargin at a dose of 100 mcg/kg/ for 30 days starting from 21 day after the alloxan administration. Diabetes mellitus was modeled by administration of alloxan at a dose of 100 mcg / kg once. To confirm the formation of diabetes mellitus, the condition of experimental animals was assessed on 3, 5, 7, 14 and 21 days after the administration of alloxan according to the following indicators: the presence of polydipsia and increased appetite, the level of glycemia. On the fifth day after cytotoxin administration, an increase in the amount of consumed liquid and food in groups II and III was noted. On the seventh day, the average level of glycemia in the groups ranged from 10 mmol/l to 15 mmol/l; on day 14 it attained 21 mmol/l; on day 21 of the experiment reached 23 mmol/l. Behavioral reactions of rats were evaluated using the “Porsolt” and “Open field” tests. An anxiety-depressive disorder developed in rats against the background of hyperglycemia, is confirmed by an increase in the time of immobility and passive swimming by 7 and 42 times ( $p \leq 0.01$ ), a decrease in the latent period to immobility and time of active swimming by 4.4 and 1.7 times ( $p \leq 0.01$ ) in the Porsolt test; an increase in horizontal motor activity, exploration of “minks”, freezing and grooming by 1.35, 1.8, 1.67 and 4.5 ( $p \leq 0.01$ ) times, respectively, as well as a decrease in the number of boluses by 2 times ( $p \leq 0.05$ ) in the “Open field” test. The results of the dalargin effect on the behavioral reactions of animals in conditions of experimental diabetes mellitus showed that the test compound has an antidepressant effect, manifested in the correction of an anxiety-depressive through the restoration of indicators of motor and research activity of animals in behavioral tests. The results of studying the effect of the opioid neuropeptide agent dalargin on behavioral reactions in experimental diabetes revealed stress-protective activity of the compound, which indicates the expediency of further detailed studies of the pharmacological activity of this compound under conditions of endocrine pathology.

**Keywords:** neuropeptides; dalargin; experimental diabetes mellitus; “Porsolt test”; “Open Field” test; antidepressant activity; rats.