

УДК 616-092.9

## **Ингибиторы дипептидилпептидазы-IV дипротин А и ситаглиптин, вводимые в первую постнатальную неделю развития, изменяют уровень моноаминов и их метаболитов в мозге взрослых крыс**

Хлебникова Н.Н.<sup>1</sup>, Крупина Н.А.<sup>1</sup>, Наплёкова П.Л.<sup>2</sup>, Наркевич В.Б.<sup>2</sup>, Кудрин В.С.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии». 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение

«Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В.Закусова», 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8

В наших предыдущих исследованиях установлено, что у крысят, подвергнутых действию ингибиторов дипептидилпептидазы IV (ДП-IV) дипротина А и ситаглиптина в период с 5 по 18 постнатальные дни (ПНД) или с 1 по 7 ПНД, во взрослом возрасте развивается тревожно-депрессивное состояние с повышенной стресс-провоцируемой агрессией. Нарушения поведения, вызванные действием ингибиторов ДП-IV на второй — третьей неделях постнатального развития, сопровождаются изменениями функционирования моноаминергических систем мозга в структурах, опосредующих эмоционально-мотивационную деятельность. **Целью** настоящего исследования было изучение уровня моноаминов и их метаболитов в мозге взрослых крыс, подвергнутых действию дипротина А и ситаглиптина в ПНД 1-7. **Методы.** Крысам опытных групп внутрибрюшинно вводили дипротин А (2 мг/кг) или ситаглиптин (4 мг/кг), животным контрольной группы — физиологический раствор. У крыс в возрасте 2,5 мес. методом ВЭЖХ/ЭД оценивали уровень моноаминов и их метаболитов во фронтальной коре, стриатуме, миндалине, гиппокампе и гипоталамусе. **Результаты.** У крыс обеих опытных групп обнаружено снижение уровня серотонина во фронтальной коре и норадреналина в стриатуме. Кроме того, у животных, которым неонатально вводили дипротин А, повышался оборот серотонина во фронтальной коре и миндалине. **Заключение.** Данные свидетельствуют о том, что действие ингибиторов ДП-IV в ПНД 1-7 вызывает длительную дисфункцию моноаминергических систем мозга крыс.

**Ключевые слова:** модель тревожно-депрессивного состояния; крысы; ингибиторы дипептидилпептидазы-IV; моноамины в структурах мозга.

**Для цитирования:** Хлебникова Н.Н., Крупина Н.А., Наплёкова П.Л., Наркевич В.Б., Кудрин В.С. Ингибиторы дипептидилпептидазы-IV дипротин А и ситаглиптин, вводимые в первую постнатальную неделю развития, изменяют уровень моноаминов и их метаболитов в мозге взрослых крыс. Патогенез. 2018; 16(3): 101–104  
DOI: 10.25557/2310-0435.2018.03.101-104

**Для корреспонденции:** Хлебникова Надежда Николаевна, e-mail: nanikh@yandex.ru

**Финансирование.** Исследование поддержано грантом Российского Фонда Фундаментальных исследований № 15-04-08784.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 20.08.2018

## ***Dipeptidyl peptidase IV inhibitors diprotin A and sitagliptin administered in the first postnatal week change the level of monoamines and their metabolites in the brain of adult rats***

Khlebnikova N.N.<sup>1</sup>, Krupina N.A.<sup>1</sup>, Naplyokova P.L.<sup>2</sup>, Narkevich V.B.<sup>2</sup>, Kudrin V.S.

<sup>1</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

<sup>2</sup> V.V.Zakusov Institute of Pharmacology, Baltijskaya Str. 8, Moscow 125315, Russian Federation

In our previous studies, we have shown that rat pups exposed to dipeptidyl peptidase IV (DP-IV) inhibitors during postnatal days (PND) 5-18 or PND 1-7, in adulthood develops anxiety-depressive state with stress-induced aggression. Behavioral disorders in adult rats caused by the action of DP-IV inhibitors in the second — third postnatal weeks are accompanied by changes in monoamine metabolism in the striatum. **The aim** of this study was to estimate the levels of monoamines and their metabolites in brain structures of adult rats exposed to diprotin A and sitagliptin at PND 1-7. **Methods.** Diprotin A (2 mg/kg) or sitagliptin (4 mg/kg) was administered intraperitoneally to rats of the experimental group, and physiological saline — to the control animals. The levels of monoamines and their metabolites were measured by the HPLC/ED in the frontal cortex, striatum, amygdala, hippocampus and hypothalamus in 2,5-months-old animals. **Results.** We revealed a significant decrease in the level of serotonin in the frontal cortex and norepinephrine in the striatum. In addition, diprotin A increased serotonin

turnover in the frontal cortex and amygdala. **Conclusion** The data suggest that the action of DP-IV inhibitors at PND 1-7 induces long-term dysfunction of monoaminergic systems of the rat's brain.

**Key words:** model of an anxiety-depressive state; postnatal days 1-7; rats; inhibitor of dipeptidyl peptidase-IV; monoamines in brain structures.

**For citation:** Khlebnikova N.N., Krupina N.A., Naplyokova P.L., Narkevich V.B., Kudrin V.S. [Dipeptidyl peptidase IV inhibitors diprotin A and sitagliptin administered in the first postnatal week change the level of monoamines and their metabolites in the brain of adult rats]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2018; 16(3): 101–104 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.03.101-104

**For correspondence:** Khlebnikova Nadezhda Nikolaevna, e-mail: nanikh@yandex.ru

**Funding.** This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant No. 15-04-08784).

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Received:** 20.08.2018

## Введение

В наших исследованиях показано, что ингибиторы одной из сериновых пролинспецифических пептидаз — дипептидилпептидазы IV (ДП-IV, ЕС 3.4.14.5) — дипротин А и ситаглиптин в условиях их введения крысам в период с 1-го по 7-й постнатальный день (ПНД 1-7) вызывают нарушения эмоционально-мотивационного поведения у крыс подросткового возраста и у взрослых животных [1] Ранее на моделях экспериментальных тревожно-депрессивных состояний со стресс-провоцируемой агрессией, индуцированных действием дипротина А и ситаглиптина в ПНД 5-18, выявлены длительные изменения метаболизма моноаминов в стриатуме взрослых крыс [2].

Цель настоящего исследования состояла в изучении уровня моноаминов и их метаболитов в структурах мозга, вовлеченных в эмоционально-мотивационную деятельность, у взрослых крыс, подвергнутых действию ингибиторов ДП-IV дипротина А и ситаглиптина в первую неделю постнатального развития.

## Материалы и методы исследования

Работа выполнена на крысах-самцах Вистар, выращенных в питомнике ФГБНУ НИИОПП. Животных содержали в стандартных условиях вивария с естественной сменой освещенности, свободным доступом к пище и воде. Все эксперименты на животных были проведены в соответствии с «Правилами надлежащей лабораторной практики», утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016, и одобрены Этическим комитетом ФГБНУ НИИОПП.

День рождения крысят считали нулевым постнатальным днём (ПНД). Каждой из 10 самок оставляли для выкармливания по 3–5 крысят мужского пола из разных пометов. Внутривентрикулярное введение ингибиторов ДП-IV дипротина А (H-Ile-Pro-Ile-OH, MB 341.45, Sigma-Aldrich, USA, 2 мг/кг;  $n = 11$ ) и ситаглиптина (фосфат моногидрат, MB 523.32, Sigma-Aldrich, USA, 4 мг/кг;  $n = 10$ ) проводили с 1-го по 7-й ПНД включительно, один раз в сутки, в объеме 0,1 мл на 10 г веса, примерно в эквивалентных дозах. Контрольным животным по той же схеме вводили физиологический раствор (ФР;  $n = 18$ ).

В возрасте около 1 мес. крысят отделяли от матери и после адаптационного периода (3–4 дня) оценивали их поведение в тестах на тревожность, депрессивность и агрессивность. Методы оценки поведения и результаты обследования подробно изложены в работе [2]. В возрасте 2,5 мес. после повторного поведенческого тестирования животных декапитировали, извлекали головной мозг и

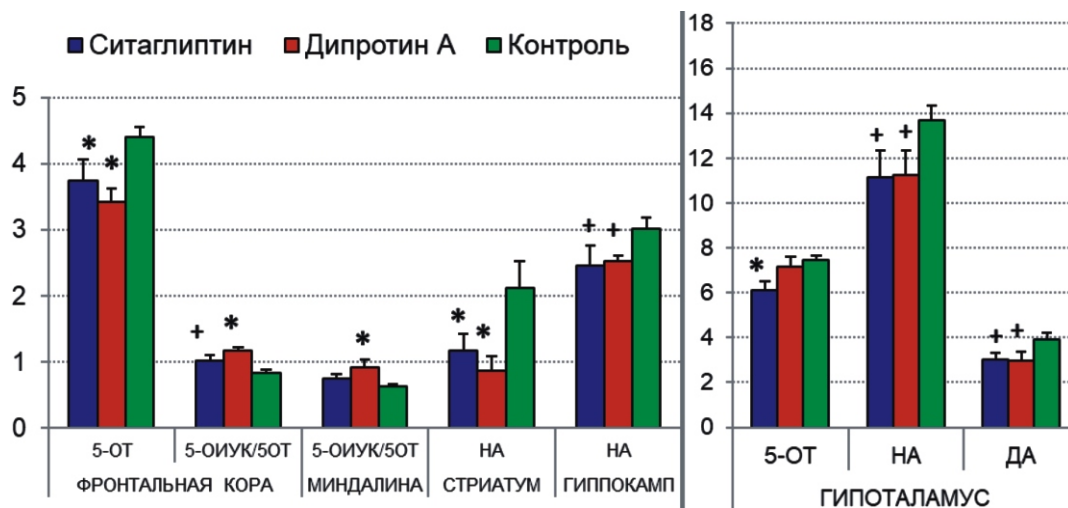
выделяли фронтальную кору, стриатум, гипоталамус, миндалину и гиппокамп. Выделение проводили на ледяной подложке. Образцы ткани немедленно помещали в жидкий азот, взвешивали, а затем хранили при  $-83^{\circ}\text{C}$  до проведения анализа содержания моноаминов и их метаболитов методом ВЭЖХ/ЭД на хроматографе LC-304T (BAS, West Lafayette, США). Пробоподготовка и условия измерения уровня моноаминов в структурах мозга крыс описаны в статье [3]. Оценивали содержание в пробах норадреналина (НА), дофамина (ДА), 3,4-дигидроксифенилуксусной кислоты (ДОФУК), гомованилиновой кислоты (ГВК), 3-метокситирамина (3-МТ), 5-гидрокситриптамина (5-ОТ, серотонин), 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК). Концентрацию моноаминов в опытных образцах рассчитывали методом «внутреннего стандарта», исходя из отношений площадей пиков в стандартной смеси и в образце, и выражали в нмоль/г ткани.

Для статистической обработки результатов использовали программу Statistica 7.0. После проверки соответствия распределения эмпирических данных нормальному закону (критерий Колмогорова-Смирнова) применяли параметрический однофакторный дисперсионный анализ One-Way ANOVA с последующим *post hoc* анализом по LSD-тесту. Данные представлены в виде  $M \pm SEM$ . Принятый уровень значимости составлял 5%.

## Результаты исследования

Как показано ранее [2], признаки депрессивноподобного поведения наблюдали в обеих опытных группах в возрасте одного мес.: у животных была снижена двигательная активность в тесте автоматизированного «открытого поля» и повышен индекс депрессивности в тесте принудительного плавания. У взрослых животных на момент взятия проб для нейрохимического анализа симптомы нарушения поведения были выявлены только у крыс, получавших в неонатальный период дипротин А: у этих животных развивалась повышенная тревожность и агрессивность.

У крыс, подвергнутых действию ингибиторов ДП-IV дипротина А и ситаглиптина в ПНД 1-7, уровень моноаминов и их метаболитов был изменен по сравнению с контролем во всех изученных структурах мозга (рисунок). В обеих опытных группах у взрослых крыс во фронтальной коре уровень 5-ОТ был снижен, а его оборот по отношению 5-ОИУК/5-ОТ — повышен. Кроме того, у крыс, которым неонатально вводили дипротин А, был увеличен оборот 5-ОТ в миндалине, а у крыс, подвергнутых неонатальному действию ситаглиптина, — снижен



Уровень моноаминов и их метаболитов (нмоль/г ткани) в мозге крыс с эмоционально-мотивационными нарушениями, вызванными действием ингибиторов ДП-IV дипротина А и ситаглиптина в ПНД 1-7. Сокращения см. в тексте.

Результаты статистического анализа (ONE WAY ANOVA,  $F_{2,36}$ ): Фронтальная кора: 5-ОТ: 6,364  $p = 0,004$ ; 5ОИУК/5ОТ: 7,306  $p = 0,002$ ; Миндалина: 5ОИУК/5ОТ: 3,556  $p = 0,039$ ; Гипоталамус: 5-ОТ: 4,962  $p = 0,013$ ; Стриатум: НА: 3,850  $p = 0,031$ . Обозначения статистической значимости по результатам *post hoc* анализа по LSD-тесту: \* —  $p < 0,05$ ; + —  $p < 0,07$  по сравнению с контрольной группой.

уровень 5-ОТ в гипоталамусе. На обеих моделях выявлено снижение уровня норадреналина (НА) в стриатуме. В обеих группах на уровне выраженной тенденции в гиппокампе был снижен НА, а в гипоталамусе — НА и дофамин (ДА) (рисунок).

### Обсуждение

По показателям эмоционально-мотивационной деятельности последствия действия дипротина А и ситаглиптина в первую неделю постнатального развития были значительно менее выражены, чем последствия действия тех же ингибиторов в тех же дозах в условиях их введения на второй-третьей неделях постнатального развития [2]. При этом в экспериментах с введением ингибиторов в ПНД 5-18 эмоционально-мотивационные нарушения у взрослых крыс сопровождались изменением состояния серотонинергической системы в стриатуме [3]. В случае действия ингибиторов ДП-IV в ПНД 1-7 нейрохимические изменения были выявлены по большому числу показателей и в большем числе структур мозга. Можно полагать, что в неонатальном онтогенезе существует критический период созревания системы ДП-IV, в течение которого крысы проявляют повышенную чувствительность к патогенному действию ингибиторов этого фермента. Ингибиторы ДП-IV могут прямо или опосредованно нарушать функционирование моноаминергических систем мозга, которые формируются в постнатальном онтогенезе (5-ОТ: ПНД 0-20; катехоламины: ПНД 0-80) [4] и вовлечены в реализацию тревожно-депрессивных состояний и повышенной агрессивности.

### Заключение

Показано, что ингибиторы ДП-IV дипротин А и ситаглиптин в условиях их действия в первую неделю постнатального развития изменяют обмен моноаминов в ряде структур мозга, вовлеченных в эмоционально окрашенный ответ и мотивационную деятельность. Основные изменения выявлены в состоянии серотонинергической системы мозга.

### Список литературы

1. Крупина Н.А., Хлебникова Н.Н., Орлова И.Н. Эмоционально-мотивационные расстройства у крыс как следствие действия дипротина А и ситаглиптина в первую неделю постнатального развития. *Журнал высшей нервной деятельности им. И.П. Павлова*. 2016; 66): 367-381.
2. Krupina N.A., Khlebnikova N.N. Neonatal exposure to the dipeptidyl peptidase-iv inhibitors diprotin A and sitagliptin induces depression-like behavior, anxiety, and latent aggression in adolescent and adult rats. *J. Behav. Brain Sci.* 2016; 6 (4): 167-83. DOI: 10.1007/s10517-017-3763-5.
3. Хлебникова Н.Н., Оршанская Е.В., Наркевич В.Б., Кудрин В.С., Крупина Н.А. Ингибиторы дипептидилпептидазы-IV дипротин А и ситаглиптин в условиях их введения на второй-третьей неделях постнатального развития изменяют метаболизм моноаминов в стриатуме взрослых крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2017; 163): 150-55. DOI: 10.1007/s10517-017-3763-5.
4. Suri, D., Teixeira, C.M., Cagliostro, M.K., Mahadevia, D., An-sorge, M.S. Monoamine-sensitive developmental periods impacting adult emotional and cognitive behaviors. *Neuropsychopharmacology*. 2015; 40 (1): 88-112. DOI: 10.1038/npp.2014.231.

### References

1. Krupina N.A., Khlebnikova N.N., Orlova I.N. [Emotional motivational disorders in rats as a result of diprotin A and sitagliptin administration in the first postnatal week]. *Zhurnal vysshej nervnoj deyatel'nosti im. I.P. Pavlova [I.P. Pavlov journal of higher nervous activity]*. 2016; 66): 367-81. DOI: 10.7868/S0044467716030059. (in Russian)
2. Krupina N.A., Khlebnikova N.N. Neonatal exposure to the dipeptidyl peptidase-iv inhibitors diprotin A and sitagliptin induces depression-like behavior, anxiety, and latent aggression in adolescent and adult rats. *J. Behav. Brain Sci.* 2016; 6 (4): 167-83. DOI: 10.1007/s10517-017-3763-5.
3. Khlebnikova N.N., Orshanskaya E.V., Narkevich V.B., Kudrin V.S., Krupina N.A. [Dipeptidyl Peptidase 4 inhibitors diprotin A and sitagliptin administered on weeks 2-3 of postnatal development modulate monoamine metabolism in the striatum of adult rats]. *Byulleten' ehksperimental'noj biologii i mediciny [Bulletin of experimental biology and medicine]*. 2017; 163(2):190-94. DOI: 10.1007/s10517-017-3763-5.
4. Suri, D., Teixeira, C.M., Cagliostro, M.K., Mahadevia, D., An-sorge, M.S. Monoamine-sensitive developmental periods impacting adult emotional and cognitive behaviors. *Neuropsychopharmacology*. 2015; 40 (1): 88-112. DOI: 10.1038/npp.2014.231.

---

**Сведения об авторах:**

*Хлебникова Надежда Николаевна — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории общей патологии нервной системы Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»*

*Крупина Наталия Александровна — доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории общей патологии нервной системы Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии»*

*Наплёкова Полина Леонидовна — кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник лаборатории нейрохимической фармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В.Закусова»*

*Наркевич Виктор Борисович — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории нейрохимической фармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В.Закусова»*

*Кудрин Владимир Сергеевич — кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией нейрохимической фармакологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В.Закусова»*