

ВЛИЯНИЕ НЕМИФИТИДА НА ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ И ЛОКОМОТОРНУЮ АКТИВНОСТЬ КРЫС

Захарушкина Анастасия Александровна, студент магистратуры кафедры физиологии человека и животных Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королёва;

Исакова Татьяна Сергеевна, аспирант кафедры физиологии человека и животных Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королёва;

Конашенкова Анастасия Тарасовна, студент бакалавриата кафедры физиологии человека и животных Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королёва;

Кулик Регина Олеговна, студент магистратуры кафедры физиологии человека и животных Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королёва;

Инюшкин Алексей Николаевич, заведующий кафедрой физиологии человека и животных Самарского национального исследовательского университета имени академика С.П. Королёва.

В работе описаны результаты экспериментов, выполненных на лабораторных крысах, о влиянии интраназального введения пептида немифитида на исследовательское поведение и горизонтальную локомоторную активность в стандартных поведенческих тестах «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Черно-белая камера». Установлено, что немифитид ингибирует исследовательское поведение и локомоторную активность.

Ключевые слова: немифитид, крысы, поведение, поведенческие тесты, исследовательское поведение, горизонтальная локомоторная активность.

THE EFFECT OF PEPTIDE NEMIFITIDE ON THE ANXIETY LEVEL IN THE LABORATORY RATS

Zakharushkina Anastasiya Alexandrovna, student of magistrature, Department of Human and Animal Physiology, Samara National Research University;

Isakova Tatiana Sergeevna, PhD student, Department of Human and Animal Physiology, Samara National Research University;

Konashenkova Anastasiya Tarasovna, undergraduate student, Department of Human and Animal Physiology, Samara National Research University;

Kulik Regina Olegovna, student of magistrature, Department of Human and Animal Physiology, Samara National Research University;

Inyushkin Alexey Nikolaevich, Head of Department of Human and Animal Physiology, Samara National Research University.

In the paper, the results of experiments conducted in rats on the effects of intranasal administration of peptide nemifitide on willingness to explore and horizontal locomotor activity in conventional behavioural tests “Open field”, “Elevated cross maze” and “Black-white chamber” are presented. It was found that nemifitide inhibits the willingness to explore and locomotor activity.

Key words: nemifitide, behavior, behavioral tests, anxiety level.

Одним из пока еще слабо изученных нейропептидов является аналог меланостатина немифитид. Данный пептид рассматривается в качестве перспективного лекарственного препарата для коррекции некоторых неврологических и психических заболеваний и находится на стадии доклинического тестирования. Серия испытаний, выполненная на животных и человеке, подтвердила фармакологическую активность пептида [1], позволила выяснить пути его метаболизма [2], фармакокинетику [3], отсутствие побочных эффектов при попытках лечения депрессии [4-5]. К сожалению, сейчас так и остается неясным, имеет ли немифитид реальное клиническое значение при различных способах введения или же в сочетании с другими препаратами. Поскольку пептиды, благодаря благоприятному биологическому профилю, хорошей переносимости и низкой токсичности, имеют существенные преимущества

перед классическими лекарственными средствами, получаемыми химическим синтезом, то исследование физиологической активности немифотида может оказаться перспективным.

В настоящей работе представлены результаты исследования влияния немифотида на ориентировочно-исследовательское поведение и горизонтальную локомоторную активность крыс в тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Черно-белая камера» и «Открытое поле».

Исследования проводились на 12 беспородных белых крысах-самцах массой 200–250 г в течение 5 последовательных дней. Животные содержались в стандартных условиях вивария со свободным доступом к воде и пищи. Работа выполнена с соблюдением этических принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.), и приказа МЗ РФ от 19.06.2003 № 267. Протокол экспериментов одобрен комиссией по биоэтике Самарского национального исследовательского университета им. академика С.П. Королева.

Животным экспериментальной группы ($n = 6$) интраназально вводили водный раствор немифотида в объеме 20 мкл, и в концентрации 10^{-5} М. Контрольной группе животных ($n = 6$) интраназально вводили дистиллированную воду в том же объеме. Тестирование начиналось через 30 минут после введения пептида. Каждое отдельное тестирование длилось 3 минуты. С целью оценки исследовательской и локомоторной активности в тесте «Открытое поле» регистрировали количество секторов, пройденное за время тестирования, и количество обследованных «норок». В тестах «Приподнятый крестообразный лабиринт» и «Черно-белая камера» определяли количество переходов между рукавами и отсеками.

Статистическую обработку результатов проводили при помощи компьютерной программы «SigmaPlot 12.5». Данные представлены как средние арифметические \pm стандартное отклонение. Нормальность распределения данных в выборках проверяли с помощью теста Шапиро-

Уилка, однородность дисперсий – с помощью теста Левена. Различия между группами признавались статистически значимыми при $P < 0,05$ (непарный t-тест).

Исследование влияния немифитида на поведение крыс в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» показало, что введение данного пептида приводит к статистически значимому уменьшению количества переходов между рукавами в первые 2 дня тестирования. В первый день количество переходов в контроле было равно $6,8 \pm 1,8$, тогда как у животных, получавших немифитид, это количество составило $3,2 \pm 2,0$ (различия статистически значимы, $P < 0,05$: непарный t-тест). Значение этого показателя слабо изменилось ко второму дню эксперимента. В это время количество переходов у животных контрольной группы оказалось равным $6,6 \pm 1,7$. Крысы, получавшие немифитид, совершили во второй день наблюдения $3,2 \pm 2,0$, что было меньше, чем в контроле ($P < 0,05$: непарный t-тест). Однако в дальнейшем (на 3-5 день исследования) статистически значимых различий в количестве переходов между отсеками у крыс контрольной и опытной группы более не обнаруживалось ($P > 0,05$: непарный t-тест). Уменьшение количества переходов между открытыми и закрытыми рукавами в первые дни тестирования может расцениваться как угнетение немифитидом исследовательской и общей локомоторной активности.

Наблюдения в тесте «Черно-белая камера» показали, что интраназальное введение немифитида приводит к уменьшению количества переходов между отсеками. При этом статистически значимые различия с контролем обнаруживались в первый и пятый дни наблюдения. В первый день тестирования количество переходов между отсеками у крыс контрольной группы составило $7,2 \pm 1,3$, а у крыс, получавших немифитид, – $3,8 \pm 0,8$ (различия статистически значимы, $p < 0,05$: непарный t-тест). В последующие 3 дня наблюдения статистически значимых различий в количестве переходов между крысами контрольной и опытной групп

обнаружено не было ($P > 0,05$: непарный t-тест), несмотря на сохраняющуюся тенденцию к уменьшению числа переходов под влиянием немифида. Наконец в пятый день тестирования вновь количество переходов у крыс, получавших немифид, было ниже ($2,1 \pm 0,6$), чем у животных контрольной группы ($5,2 \pm 1,2$; различия статистически значимы, $p < 0,05$: непарный t-тест).

При анализе горизонтальной активности крыс в тесте «Открытое поле» были зарегистрированы различия в количестве пройденных секторов, причем у животных, получавших немифид, горизонтальная активность оказалась меньшей, чем у крыс контрольной группы. Тенденция к уменьшению горизонтальной активности сохранялась на протяжении всего 5-дневного периода наблюдения, однако, статистически значимые различия с контролем зарегистрированы на 1, 3 и 5 дни эксперимента. В первый день наблюдения количество пройденных секторов у животных контрольной группы составило 20 ± 3 , тогда как у крыс, получавших немифид, значение данного показателя равнялось 13 ± 4 (различия статистически значимы, $p < 0,05$: непарный t-тест). В третий день эксперимента значение данного показателя у крыс контрольной и опытной групп составляло, соответственно, 19 ± 6 и 12 ± 3 (различия статистически значимы, $P < 0,05$: непарный t-тест), а в пятый день, соответственно, 19 ± 5 сек и 13 ± 4 (различия статистически значимы, $P < 0,05$: непарный t-тест). Таким образом, введение немифида угнетало проявления горизонтальной активности, что нашло отражение в уменьшении числа пройденных секторов в тесте «Открытое поле». Такие изменения поведения могут свидетельствовать об ингибировании исследовательской и общей локомоторной активности данным пептидом.

Показателем теста «Открытое поле», характеризующим выраженность исследовательского поведения, также является количество обследованных «норок». Статистически значимое различие в величине данного показателя у крыс контрольной группы и животных, получавших

немифитид, было обнаружено на четвертый день исследования. В этот день крысы контрольной группы обследовали $10,3 \pm 1,9$ «норок», тогда как крысы, получавшие немифитид, обследовали лишь $6,0 \pm 1,1$ «норок» (различия статистически значимы, $P < 0,05$: непарный t-тест). В остальные дни эксперимента статистически значимых различий в количестве обследованных «норок» животными контрольной и опытной групп не выявлено ($P > 0,05$: непарный t-тест).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в данных экспериментальных условиях немифитид при интраназальном введении вызвал снижение исследовательской и общей локомоторной активности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Hlavka J.J., Abajian H., Morrison J., Overstreet D., Kelly J., Nicolau G., Feighner J.P. *Chemistry and pharmacology of nemifitide, a novel antidepressant peptide* // Int. J. Neuropsychopharmacol. 2002. Vol. 5(Suppl. 1). P. S97.
2. Alarcon R.D. // *Antidepressants: past, present and future*. K. Starke, Freiburg, I.B. (Eds.). 2004. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag Berlin. 575 p.
3. Overstreet D.H., Hlavka J., Feighner J.P., Nicolau G., Freed J.S. *Antidepressant-like effects of a novel pentapeptide, nemifitide, in an animal model of depression* // Psychopharmacol. 2004. Vol. 175. № 3. P. 303-309.
4. Rakofsky J.J., Holtzheimer P.E., Nemeroff C.B. *Emerging targets for antidepressant therapies*. Curr. Opin. Chem. Biol. 2009. Vol. 13. № 3. P. 291-302.
5. Montgomery S.A., Feighner J.P., Sverdlov L., Shrivastava R.K., Cunningham L.A., Kiev A., Hlavka J., Tonelli G. *Efficacy and safety of 30 mg/d and 45 mg/d nemifitide compared to placebo in major depressive disorder*. Int. J. Neuropsychopharmacol. 2006. Vol. 9. № 5. P. 517-528.