

## Оригинальные статьи

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616-092.9

Хлебникова Н.Н., Ширенова С.Д., Крупина Н.А.

# Неонатальное действие ингибитора дипептидилпептидазы IV дипротина А приводит к формированию гиперактивного фенотипа и длительному повышению агрессивности у крыс

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

**Введение.** Ингибиторы пролинспецифической сериновой протеазы дипептидилпептидазы IV (ДПП-IV, CD26, EC 3.4.14.5), способные модулировать широкий спектр физиологических процессов, находят применение в клинике. В наших работах получены свидетельства влияния ингибиторов ДПП-IV при их введении в раннем постнатальном периоде на эмоционально-мотивационное поведение взрослых крыс. Более сильные изменения в поведении отмечались у крыс при действии ингибитора ДПП-IV дипротина А. Однако не ясно, как долго сохраняются такие изменения.

**Цель работы** – изучение отсроченных эффектов ингибитора ДПП-IV дипротина А на выраженность эмоционально-мотивационных расстройств, индуцированных действием ингибитора в раннем постнатальном периоде, в динамике взросления крыс от 2 до 7 мес.

**Методика.** Дипротин А вводили крысам ежедневно в 5–18-й постнатальные дни внутривентриально (2 мг/кг), в объеме 0.1 мл на 10 г массы тела. Крысы контрольной группы получали инъекции физиологического раствора. Поведение взрослых крыс оценивали в возрасте 2 и 7 мес в тестах автоматизированного «открытого поля», «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ), принудительного плавания и социального взаимодействия. Уровень кортикостерона в сыворотке крови определяли методом твердофазного иммуноферментного анализа ELISA. Для статистической обработки результатов использовали двухфакторный дисперсионный анализ Two Way ANOVA и непараметрический U-критерий Манна-Уитни с поправкой на множественность сравнений.

**Результаты.** У крыс опытной группы по сравнению с контрольной группой в возрасте 2 и 7 мес была повышена двигательная активность и скорость перемещения в тесте ПКЛ. В возрасте 7 мес у них также была увеличена вертикальная исследовательская активность. Признаков повышения тревожности не выявлено. У крыс опытной группы выявлены признаки депрессивно-подобного поведения по нарушению биоритмологической структуры плавания, более выраженные в возрасте 7 мес. Неагрессивное социальное взаимодействие у крыс, получавших неонатально дипротин А, было снижено по сравнению с контролем в возрасте 2 мес, а в возрасте 7 мес, напротив, увеличено. У этих животных число и длительность агрессивных социальных контактов были увеличены по сравнению с контролем как в возрасте 2, так и в возрасте 7 мес. Уровень кортикостерона в сыворотке крови у крыс опытной группы в возрасте 7.5 мес был выше, чем в контроле.

**Заключение.** Данные настоящего исследования свидетельствуют о развитии гиперактивного фенотипа и длительных психоэмоциональных нарушений в виде повышенной агрессивности наряду с активацией гипоталамо-гипофизарно-адренальной оси у взрослых крыс, подвергнутых действию дипротина А в 5–18-й постнатальные дни, и поддерживают представления об участии дипептидилпептидазы-IV в генезе психоэмоциональных расстройств.

**Ключевые слова:** ингибитор дипептидилпептидазы IV дипротин А; гиперактивный фенотип; депрессивно-подобное поведение; агрессия; длительные эффекты; модель; крысы

**Для цитирования:** Хлебникова Н.Н., Ширенова С.Д., Крупина Н.А. Неонатальное действие ингибитора дипептидилпептидазы IV дипротина А приводит к формированию гиперактивного фенотипа и длительному повышению агрессивности у крыс. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(4): 4-16.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.04.4-16

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

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Хлебникова Н.Н., Крупина Н.А.; сбор и обработка материала, подготовка иллюстративного материала, статистическая обработка, написание текста – Хлебникова Н.Н., Ширенова С.Д., Крупина Н.А.; редактирование – Крупина Н.А., Хлебникова Н.Н. Утверждение окончательного варианта статьи – все авторы.

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках Государственного задания по теме № 0520-2019-0031.

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

Поступила 19.02.2021

Принята к печати 02.11.2021

Опубликована 20.12.2021

**Khlebnikova N.N. Shirenova S.D., Krupina N.A.**

## Neonatal action of the dipeptidyl peptidase IV inhibitor diprotin A leads to a hyperactive phenotype formation and a prolonged increase in aggressiveness in rats

Institute of General Pathology and Pathophysiology,  
Baltiyskaya 8, Moscow 125315, Russian Federation

**Background.** Inhibitors of the proline-specific serine protease dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV, CD26, EC 3.4.14.5) may modulate a wide range of physiological processes and are used in the clinic. In our studies, we obtained evidence for the impact of DPP-IV inhibitors on adult rats' emotional and motivational behavior when administered in the early postnatal period. Diprotin A exhibited the most significant impact on the animals' behaviors. However, it is not clear how long the changes persist.

**Aim.** To study the delayed effects of the DPP-IV inhibitor diprotin A on the severity of emotional and motivational disorders induced by the inhibitor action in the early postnatal period, in the dynamics of rats maturation from 2 to 7 months.

**Methods.** Diprotin A was administered to rat pups daily on postnatal days 5–18, intraperitoneally, at a dose of 2 mg/kg, in a volume of 0.1 ml per 10 g of body weight. The rat pups of the control group received saline. The behavior of adult rats was assessed at the age of 2 and 7 months in the automated "open field," "Elevated Plus Maze" (EPM), forced swimming, and social interaction tests. Serum corticosterone levels were determined by ELISA. The results were statistically processed using Two Way ANOVA and non-parametric Mann-Whitney U-test adjusted for multiple comparisons.

**Results.** Experimental rats increased motor activity and travel speed in the EPM test compared with the control group at 2 and 7 months of age. At the age of 7 months, experimental rats also increased vertical (rearing) activity. There were no signs of increased anxiety. Experimental rats demonstrated depression-like behavior judged by the biorhythmologic structure of swimming, more pronounced at 7 months. Non-aggressive social interaction in rats treated neonatally with diprotin A was reduced compared with controls at the age of 2 months and, on the contrary, increased at the age of 7 months. In these animals, the number and duration of aggressive social contacts were increased compared with controls at the ages of 2 and 7 months. Serum corticosterone levels in experimental rats at the age of 7.5 months were higher than in control.

**Conclusion.** The present study results testify to the development of a hyperactive phenotype and prolonged psychoemotional disorders as increased aggressiveness along with hypothalamic-pituitary-adrenal axis activation in adult rats exposed to the action of diprotin A on postnatal days 5–18. The data support the dipeptidyl peptidase IV involvement in the genesis of psychoemotional disorders.

**Keywords:** Dipeptidyl Peptidase IV Inhibitor diprotin A; hyperactive phenotype; depression-like behavior; aggression; prolonged effects; model; rats

**For citation:** Khlebnikova N.N. Shirenova S.D., Krupina N.A. Neonatal action of the dipeptidyl peptidase IV inhibitor diprotin A leads to a hyperactive phenotype formation and a prolonged increase in aggressiveness in rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental' naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(4): 4-16. (in Russian). DOI: 10.25557/0031-2991.2021.04.4-16

**For correspondence:** **Nadezhda N. Khlebnikova**, Doctor of Biological Sciences, Chief Researcher, Chief Researcher, Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, e-mail: nanich@yandex.ru

**Contribution:** the concept and design of the study – Khlebnikova N.N., Krupina N.A.; collection and processing of material, preparing illustrative material, statistical processing, writing a text – Khlebnikova N.N., Shirenova S.D., Krupina N.A.; editing – Krupina N.A., Khlebnikova N.N. Approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article – all co-authors.

**Financing.** The study was carried out within the framework of the State Assignment on topic No. 0520-2019-0031

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

### Information about the authors:

Khlebnikova N.N., <https://orcid.org/0000-0002-0245-305X>

Shirenova S.D., <https://orcid.org/0000-0003-2942-1194>

Krupina N.A., <https://orcid.org/0000-0002-2462-899X>

Received 19.02.2021

Accepted 02.11.2021

Published 20.12.2021

## Введение

Дипептидилпептидаза IV (ДПП-IV, CD26, EC 3.4.14.5) представляет собой трансмембранную сериновую протеазу, в качестве субстратов которой могут выступать секретлируемые мембранные и ядерные белки, в число которых входят хемокины, цитокины, факторы роста, нейропептиды и гормоны [1]. На поверхности плазматической мембраны ДПП-IV связывается с другими протеинами, вовлеченными в важнейшие процессы поддержания гомеостаза нервной ткани, нейрональной и синаптической пластичности, внесинаптической передачи и нейротрансмиссии [2, 3]. Активность и концентрация ДПП-IV коррелируют с рядом соматических заболеваний (прежде всего, с диабетом 2 типа) [4, 5] и психоневрологических нарушений [6, 7]. Ингибиторы ДПП-IV – глиптины, относящиеся к классу миметиков инкретинных, уже больше 10 лет применяются в качестве альтернативных терапевтических средств для управления гомеостазом глюкозы у пациентов, страдающих диабетом 2 типа [8]. Селективные ингибиторы дипептидилпептидазы IV, в частности, дипротин А, имеют потенциал для клинического использования в качестве анальгетиков [9]. Учитывая плейотропные эффекты ДПП-IV в организме, можно предположить, что ингибиторы этой пептидазы способны модулировать широкий спектр физиологических процессов [10].

Ранее в наших исследованиях было показано, что ингибиторы ДПП-IV с разным механизмом действия (метионил-2(S)-цианопирролидин, дипротин А, ситаглиптин) в условиях их введения на 2-й – 3-й нед постнатального онтогенеза приводят к развитию смешанного тревожно-депрессивного состояния, сопровождающегося повышенной стресс-провоцируемой агрессивностью, у крыс подросткового возраста и взрослых животных [11, 12].

Известно, что гипоталамо-гипофизарно-адреналовая (ГГА) ось вовлечена в регуляцию эмоционального и мотивационного поведения. Так, развитие депрессивности ассоциируют с повышенным уровнем гормона надпочечников (кортизола у человека и кортикостерона у грызунов) [13, 14]. В наших экспериментах такая связь измененного психоэмоционального статуса крыс с активацией ГГА-оси по показателю повышения уровня кортикостерона в сыворотке крови была показана для 2-месячных крыс с тревожно-депрессивными расстройствами, вызванными неонатальным действием ингибиторов ДПП-IV [15, 16].

Многие особенности течения психических заболеваний, в том числе их стойкость, длительность и переносимость течения, связывают с эпигенетической

дизрегуляцией [17]. На моделях тревожно-депрессивных состояний, возникающих вследствие действия ингибиторов ДПП-IV в раннем онтогенезе, было показано, что у 3-месячных животных наблюдается повышение экспрессии генов пролинспецифических пептидаз. [18]. Эти данные хорошо согласуются с представлениями о нарушениях эпигенетической регуляции на ранних этапах развития организма как причине последующих расстройств психоэмоциональной сферы. Однако до настоящего времени только на модели тревожно-депрессивных состояний, вызванной неонатальным действием синтетического ингибитора ДПП-IV метионил-2(S)-цианопирролидина, было прослежено поведение крыс в отдаленном периоде после патогенного воздействия – вплоть до 6-месячного возраста – по целому ряду показателей тревожности, депрессивности и агрессивности [19]. На модели тревожно-депрессивного состояния, индуцированного неонатальным действием других ингибиторов ДПП-IV – дипротина А и ситаглиптина, – по оценкам тревожности и депрессивности было обнаружено что на протяжении 6 мес более сильные изменения в поведении отмечаются у крыс, которым вводили дипротин А. Полноценную оценку агрессивности в тесте социального взаимодействия у крыс на отдаленных сроках наблюдения провести не удалось. Представляло интерес оценить характер, воспроизводимость и длительность нарушений эмоционально-мотивационного поведения у крыс, подвергнутых на ранних этапах неонатального онтогенеза действию ингибитора ДПП-IV дипротина А и сопоставить эти изменения с состоянием ГГА-оси.

**Цель исследования** заключалась в изучении отсроченных эффектов ингибитора ДПП-IV дипротина А на выраженность эмоционально-мотивационных расстройств, индуцированных действием ингибитора в раннем постнатальном периоде, в динамике взросления крыс от 2 до 7 мес.

## Методика

Исследование выполнено на крысах-самцах популяции Wistar (разведение в питомнике «НИИОПП»: система «Меркурий», номер в реестре: RU 1487336). Работу с животными проводили в соответствии с «Правилами надлежащей лабораторной практики», утвержденными приказом Министерства здравоохранения РФ № 199н от 01.04.2016, и Межгосударственными стандартами ГОСТ 33215-2014, ГОСТ 33216-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными», соответствующими Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых в экспериментах и в других научных целях

(ETS N 123, Страсбург, 18 марта 1986 г. с приложением от 15.06.2006), под контролем Этического комитета ФГБНУ НИИОПП (протокол № 3 от 16.06.2020). Проведено 2 серии экспериментов по изучению отдаленных последствий неонатального действия ингибитора ДПП-IV трипептида дипротина А (Н-Пе-Pro-Пе-ОН, МВ 341.45, Sigma-Aldrich, USA) по показателям эмоционально-мотивационного состояния крыс. В обеих сериях крысам-самкам после родов оставляли по 4–6 детенышей-самцов из разных пометов, рожденных в один день. Пометы, а в дальнейшем крысят подросткового возраста и взрослых крыс содержали в стандартных условиях вивария с естественной сменой освещенности при свободном доступе к пище и воде. День родов считали нулевым постнатальным днем (ПНД 0). Дипротин А вводили крысятам опытных групп (Д) ежедневно в ПНД 5–18, внутривенно, в дозе 2 мг/кг, в объеме 0.1 мл на 10 г массы тела (Серия 1,  $n = 14$ ; Серия 2,  $n = 19$ ). Крысята контрольной группы получали инъекции физиологического раствора (ФР) (Серия 1,  $n = 12$ ; Серия 2,  $n = 18$ ). Оценку поведения проводили у взрослых крыс в возрасте 2 и 7 мес. В серии 1 после окончания поведенческих исследований в возрасте 7.5 мес крыс декапитировали с помощью гильотины и собирали смешанную артериальную и венозную кровь для определения уровня кортикостерона в сыворотке. В серии 2 данный показатель не оценивали.

**Оценка двигательной и исследовательской активности.** Двигательную (горизонтальную, по пройденному пути, см) и исследовательскую (вертикальную, по числу стоек) активность крыс оценивали в тесте автоматизированного открытого поля (аОП, система “Opto-Varimex”, «Columbus Instruments», США) при освещенности 42 люкса, в течение 10 мин. В серии 1 вертикальная активность у части животных ( $n = 16$ ) не была оценена.

**Оценка уровня тревожности.** Уровень тревожности крыс оценивали в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) с использованием системы VideoMot2 (TSE Systems GmbH, Germany). Лабиринт, изготовленный из черного непрозрачного поливинилхлорида, имеет 2 открытых рукава ( $42 \times 14$  см) (ОР) и 2 закрытых стенками рукава ( $42 \times 14 \times 22$  см) (ЗР), расположенных перпендикулярно друг другу, с площадкой в центре ( $14 \times 14$  см); ОР имеют низкие бортики (1 см) для предотвращения падения животного. ПКЛ расположен на высоте 70 см от пола. Освещенность в центре лабиринта составляла 29 лк, в ОР – 36 лк, в ЗР – 2 лк. Крысу помещали в центр ПКЛ головой в сторону ОР. Длительность тестирования составляла 5 мин. В автоматическом режиме измеря-

ли: время в ОР (мс, суммарно по двум ОР); число посещений ОР (сумма числа заходов в оба ОР); пробег в ОР (см, сумма по двум ОР); время в ЗР (мс, суммарно по двум ЗР); число посещений ЗР (сумма числа заходов в оба ЗР); пробег в ЗР (см, сумма по двум ЗР); рассчитывали предпочтение ОР как отношение числа посещений ОР к суммарному числу посещений ОР+ЗР (%); оценивали также общий пробег в ПКЛ за время тестирования (см); среднюю скорость перемещения (см/с); число и длительность (с) стоек (вертикальная исследовательская активность), эпизодов груминга (число и длительность, с); свешивания с ОР (число и длительность, с). Увеличение выраженности груминга характеризует эмоциональное напряжение, увеличение свешиваний с ОР и/или заглядываний за край ОР, так называемых «сканирований», свидетельствует о сниженном уровне тревожности у грызунов [20–23]. В настоящей работе свешивания и заглядывания за край ОР оценивали суммарно и обозначали одним термином – «свешивания» с ОР.

**Оценка депрессивно-подобного поведения.** Применяли модифицированный метод Порсолта [24] при однократном помещении животного в неизбегаемую авersive ситуацию принудительного плавания [25]. Крыс помещали в цилиндрический пластмассовый бак (высота 47 см, внутренний диаметр 35 см), заполненный водой на высоту 35 см, температура воды составляла 25–26 °С. В течение 10 мин оценивали суммарную длительность и число периодов активного (энергичные движения всеми лапами с активным перемещением) и пассивного (слабые гребки лапами, необходимые для поддержания тела на плаву) плавания, а также суммарную длительность иммобильности (полное отсутствие плавательных движений, неподвижность). С использованием биоритмологического подхода, предложенного в работе Щетинина и соавт. [26], у крыс, демонстрировавших иммобильное поведение, рассчитывали индекс депрессивности (ИД, отношение числа кратких периодов иммобильности длительностью до 6 с к общему числу периодов активного плавания).

**Оценка социального взаимодействия.** Социальное взаимодействие оценивали в незнакомой крысам клетке из плексигласа ( $37.0 \times 57.0 \times 19.0$  см) при красном свете (7 лк). По схеме эксперимента крысы в течение двух-трех дней до тестирования находились в клетках поодиночке. Такое предварительное стрессирование усиливает последующее социальное взаимодействие [27]. Поведение оценивали в парах, состоявших из животных одной экспериментальной группы – опытной или контрольной. Подбор пар осуществляли таким образом, чтобы животные не были знакомы друг

с другом, а различие в массе не превышало 15%. В течение 15 мин теста оценивали число и длительность активных неагрессивных и агрессивных социальных контактов. К активным неагрессивным социальным контактам относили обнюхивание, социальный груминг, залезание под или налезание на партнера, преследование, не заканчивавшиеся проявлением агрессии. К агрессивным контактам относили преследование, переходящее в агрессивное взаимодействие, атаки/драки, укусы, агрессивный груминг.

**Определение уровня кортикостерона в сыворотке крови.** Образцы сыворотки крови, полученные после декапитации животных, до использования хранили при -20 °С. Уровень кортикостерона оценивали методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием диагностического набора EIA-4164 (DRG ELISA, США) в соответствии с протоколом производителя. Содержание кортикостерона в крови выражали в нм/л.

**Статистическую обработку данных** проводили по алгоритмам программы «STATISTICA For Windows 7.0». По результатам предварительной проверки гипотезы о нормальном характере распределения данных по тестам Колмогорова-Смирнова и Лиллиефорса в случае, если гипотезу не отклоняли, применяли параметрические методы анализа, если гипотезу отклоняли – непараметрические методы. В работе использовали параметрический однофакторный дисперсионный анализ One Way

ANOVA, двухфакторный дисперсионный анализ Two Way ANOVA с последующим *post hoc* сравнением по Fisher-LSD тесту. Оценивали факторы «Группа» (2 градации – неонатальное введение ФР или Д) и «Возраст» (2 градации – 2 мес и 7 мес). Для непараметрического анализа использовали U-критерий Манна-Уитни для независимых переменных (двусторонний). Для поправки на множественность сравнений рассчитывали критическое значение  $p$  ( $p_{кр}$ ) по методу FDR-контроля [28]. В случае  $p_{кр} < p < 0.05$  выявленные различия рассматривали как тенденцию. Принятый уровень значимости составлял 5%. В тесте социальных взаимодействий долю пар крыс, в которых хотя бы одно из животных демонстрировало агрессивное поведение, оценивали с помощью точного метода Фишера (ТМФ, двусторонний критерий). При использовании параметрических критериев данные представлены в виде  $M \pm S.E.M.$ , при использовании непараметрических критериев – в виде  $Me [Q1; Q3]$

**Результаты и обсуждение**

В возрасте 2 мес крысы опытных и контрольных групп в двух сериях исследований не различались по массе [One Way ANOVA:  $F(3, 59) = 2.358, p = 0.081$ ], двигательной [ $F(3, 59) = 0.871, p = 0.462$ ] и исследовательской [ $F(3, 59) = 1.029, p = 0.386$ ] активности (табл. 1). В обеих сериях получены сходные результаты в поведенческих тестах, поэтому далее приведены объединенные результаты по двум сериям.

Таблица 1/ Table 1

**Характеристика групп крыс в возрасте 2 мес в двух сериях исследований после неонатального действия ингибитора ДПП-IV дипротина А или физиологического раствора**

**Characteristics of the groups of 2-month-old rats in two experimental series after neonatal action of the DPP-IV inhibitor diprotin A or saline**

Серии	Показатели в группах	
	Физиологический раствор	Дипротин А
	Масса тела, г	
Серия 1	148.7 ± 8.3 (n = 12)	148.1 ± 6.1 (n = 14)
Серия 2	127.5 ± 6.5 (n = 18)	140.9 ± 5.4 (n = 19)
	Двигательная активность за 10 мин наблюдения в автоматизированном «открытом поле». см	
Серия 1	1580.9 ± 186.0	1617.4 ± 164.3
Серия 2	1452.8 ± 116.7	1748.5 ± 118.5
	Число стоек за 10 мин. наблюдения в автоматизированном «открытом поле»	
Серия 1	21.8 ± 2.4	20.5 ± 2.3
Серия 2	16.9 ± 3.0	14.7 ± 3.7

**Примечание.** n – число животных в группе.

**Note.** n – number of animals in the group.

**Двигательная и исследовательская активность.** Фактор «Группа» не оказывал влияния на двигательную [ $F(1, 119) = 0.897, p = 0.345$ ] и исследовательскую [ $F(1, 103) = 0.407, p = 0.525$ ] активность крыс в аОП. Фактор «Возраст» влиял как на горизонтальную [ $F(1, 119) = 4.262, p = 0.041$ ], так и на вертикальную [ $F(1, 103) = 93.704, p < 0.001$ ] активность крыс. В возрасте 7 мес двигательная активность крыс была выше, чем в возрасте 2 мес, хотя статистически значимые отличия отмечены только в контрольной группе (табл. 2). Исследовательская активность возрастала как в контрольной, так и в опытной группе. Взаимодействие факторов не выявлено.

**Уровень тревожности в тесте ПКЛ.** Выявлено влияние факторов «Возраст» и «Группа» на двигательную активность в ПКЛ: соответственно, общий пробег –  $F(1, 119) = 46.367, p < 0.001$  и  $F(1, 119) = 8.064, p = 0.005$ ; скорость перемещения –  $F(1, 119) = 46.296, p < 0.001$  и  $F(1, 119) = 8.067, p = 0.005$ ; суммарное число посещений ОР и ЗР –  $F(1, 119) = 11.69, p = 0.001$  и  $F(1, 119) = 7.804, p = 0.006$ . С возрастом двигательная активность снижалась в обеих группах (табл. 3). При этом у крыс, получавших в неонатальном периоде дипротин А, показатели двигательной активности были выше, чем у животных, получавших ФР, как в возрасте 2 мес, так и в возраст-

те 7 мес (см. табл. 3). Взаимодействия факторов не выявлено.

На исследовательскую активность, которую оценивали по числу и длительности стоек, влиял фактор «Возраст», но не фактор «Группа»: соответственно, для числа стоек  $F(1, 119) = 3.789, p = 0.054$  и  $F(1, 119) = 0.032, p = 0.857$ ; для длительности стоек  $F(1, 119) = 75.653, p < 0.001$  и  $F(1, 119) = 0.615, p = 0.434$ . Взаимодействие факторов «Возраст» x «Группа» для показателя длительности стоек было статистически значимым ( $F(1, 119) = 6.168, p = 0.014$ ), тогда как для показателя числа стоек выявлена только тенденция ( $F(1, 119) = 2.904, p = 0.090$ ). Таким образом, в возрасте 2 мес вертикальная активность в опытной и контрольной группах не различалась, к 7 мес она увеличивалась в обеих группах, но в большей степени – в опытной группе (см. табл. 3).

Признаков повышения тревожности в ПКЛ у крыс с неонатальным введением дипротина А по сравнению с контролем ни на одном из сроков тестирования не выявлено. Влияния факторов «Возраст» и «Группа» на предпочтение ОР, а также взаимодействие этих факторов для этого показателя не обнаружено: соответственно,  $F(1, 119) = 0.755, p = 0.386$ ;  $F(1, 119) = 0.145, p = 0.704$ ;  $F(1, 119) = 0.451, p = 0.503$ . По величине показателей посещения ОР и ЗР (пробег, число и дли-

Таблица 2 / Table 2

**Двигательная и исследовательская активность крыс, подвергнутых неонатальному действию ингибитора ДПП-IV дипротина А, в сравнении с крысами контрольной группы, получавшими физиологический раствор, суммарно за 10 мин наблюдения в автоматизированном «открытом поле»**

**The locomotor and exploratory activity in rats neonatally exposed to DPP-IV inhibitor diprotin A, in comparison with rats of the control group treated with saline, in total for 10 min in the automated “open field” test**

Показатели	Группы	
	Физиологический раствор	Дипротин А
Возраст 2 мес		
Двигательная активность, см	1504.1 ± 100.9 (n = 30)	1692.9 ± 96.6 (n = 33)
Число стоек	18.9 ± 2.1 (n = 30)	17.2 ± 2.4 (n = 33)
Возраст 7 мес		
Двигательная активность, см	1813.3 ± 127.5 # (n = 29)	1828.7 ± 106.3 (n = 31)
Число стоек	42.0 ± 2.0 # (n = 27)	40.6 ± 2.9 # (n = 17)

**Примечание.** #  $p < 0.05$  по сравнению со значением показателя в той же группе крыс в возрасте 2 мес (по Fisher LSD-тесту после Two Way ANOVA); n – число животных в группе.

**Note.** #  $p < 0.05$  in comparison with the rats at the age of 2 months in the same group (Two Way ANOVA followed by the Fisher LSD *post hoc* test); n – number of animals in the group.

тельность заходов) различий между группами ни на одном из сроков не было обнаружено.

Межгрупповой анализ не выявил различий по числу и длительности свешиваний с ОР на каждом из сроков наблюдения (рис. 1, А, Б). Частота эпизодов и длительность груминга у крыс с неонатальным введением дипротина А в возрасте 2 мес были ниже контрольных значений (рис. 1, В, Г). Внутригрупповой анализ показал статистически значимое снижение показателей свешиваний с ОР ПКЛ и груминга с возрастом только в контрольной группе.

**Депрессивно-подобное поведение.** Признаки депрессивно-подобного поведения выявлены у крыс опытной группы в возрасте 2 и 7 мес. По доле животных, демонстрировавших иммобильность, контрольная и опытная группы не различались в возрасте 2 и 7 мес (соответственно, для ФР: 40.0% и 58.6%; для Д: 57.6% и 63.3%). У крыс опытной группы в возрасте 7 мес наблюдали увеличение ИД и тенденцию к превышению числа периодов иммобильности по сравнению со значением в контрольной группе (табл. 4). По показателям активного и пассивного плавания не выявлено ни межгрупповых, ни внутригрупповых отличий.

**Социальное взаимодействие.** Выявлено взаимодействие факторов «Возраст» и «Группа» для показателей: число [ $F(1, 53)=14,663, p < 0.001$ ] и длительность [ $F(1, 53)=10.421, p = 0.002$ ] активных неагрессивных контактов, соответственно. У крыс опытной группы в возрасте 2 мес. наблюдали сниженное по сравнению с контро-

лем неагрессивное социальное взаимодействие по показателям суммарного числа контактов и их длительности за 15 мин тестирования (рис. 2, А, Б). В возрасте 7 мес у крыс опытной группы число неагрессивных контактов возрастало по сравнению с предыдущим сроком тестирования, а у крыс контрольной группы – снижалось. Таким образом, в 7 мес неагрессивное социальное взаимодействие в группе с неонатальным введением Дипротина А было увеличено по сравнению с контролем. Влияние самих факторов «Возраст» и «Группа» не обнаружено.

Стресс-провоцируемое агрессивное взаимодействие с возрастом снижалось в обеих группах (рис. 3, А, Б). Однако в опытной группе число и длительность агрессивных социальных контактов были увеличены по сравнению с контролем как в возрасте 2, так и в возрасте 7 мес.

Относительное число пар, в которых крысы в возрасте 7 мес, получившие неонатально дипротин А, демонстрировали агрессивное поведение, было выше, чем в контроле и составило, соответственно, 80.0% и 6.3% (ТМФ,  $p < 0.001$ ).

**Уровень кортикостерона в крови крыс** в сыворотке крови крыс опытной группы в возрасте 7.5 мес был статистически значимо выше, чем в контрольной группе (рис. 4).

Результаты проведенного исследования показывают, что ингибитор ДПП-IV дипротин А при его введении в период с 5-го по 18-й ПНД, индуцирует у самцов крыс Wistar изменения поведения в тестах ПКЛ, принудительного плавания и социального взаимодей-

Таблица 3 / Table 3

**Показатели поведения в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» у крыс, получавших неонатально ингибитор ДПП-IV дипротин А или физиологический раствор**

**Behavior indices in the «Elevated Plus Maze» test in rats treated neonatally with the DPP-IV inhibitor diprotin A or saline**

Показатели	Группы			
	2 мес		7 мес	
	физиологический раствор (n = 30)	дипротин А (n = 33)	физиологический раствор (n = 29)	дипротин А (n = 31)
Пробег общий (см)	1831.3 ± 95.9	2032.7 ± 80.3 #	1319.3 ± 56.7♦	1537.8 ± 52.1 *♦
Общая скорость (см/с)	6,1 ± 0.3	6.8 ± 0.3 #	4.4 ± 0.2 ♦	5.1 ± 0.2 *♦
Суммарное число посещений отделов ПКЛ	19.8 ± 1.6	24,6 ± 1.9*	15.1 ± 1.3 ♦	18.8 ± 1.1 ×♦
Число стоек	9.3 ± 0.8	8,1 ± 0.7	9.5 ± 0.7	10.9 ± 0.7♦
Длительность стоек (с)	13.8 ± 1.9	10.2 ± 1.1	27.1 ± 2.6 ♦	34.0 ± 2.7 *♦

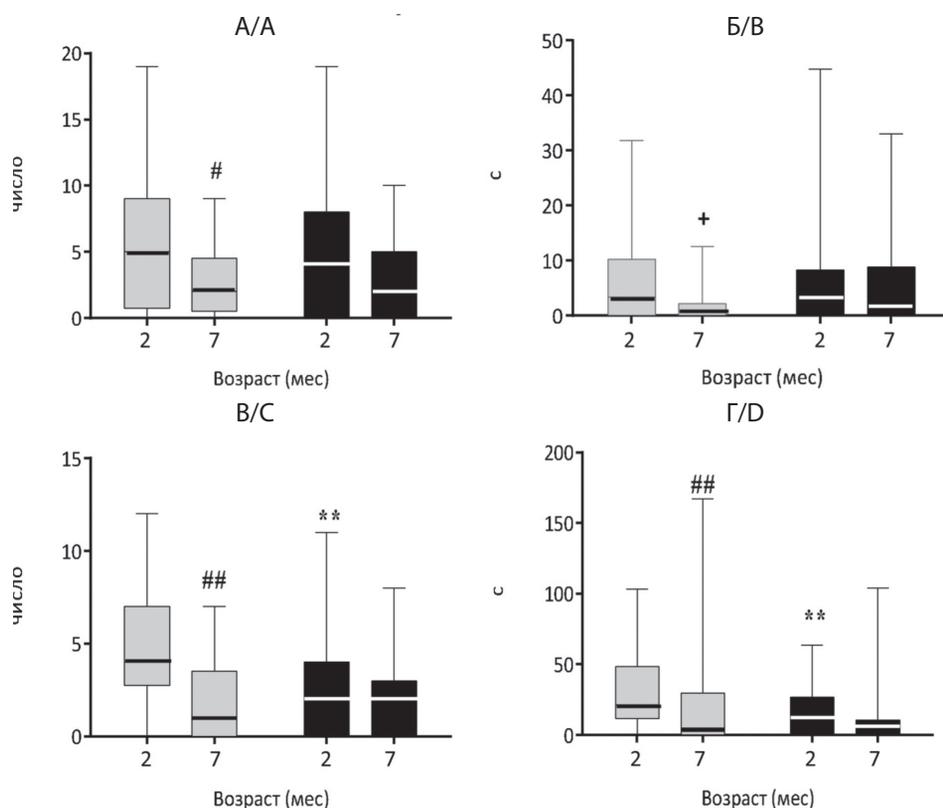
**Примечание.** \* $p < 0.05$ ; # $p = 0.053$ ; × $p = 0.094$  по сравнению со значением показателя в контрольной группе крыс на том же сроке наблюдения; ♦ $p < 0.05$  по сравнению со значением показателя в той же группе крыс на предыдущем сроке наблюдения (по Fisher LSD-тесту после Two Way ANOVA); n – число животных в группе.

**Note.** \* $p < 0.05$ ; # $p = 0.053$ ; × $p = 0.094$  in comparison with the rats of the same age in the control group; ♦ $p < 0.05$  in comparison with the rats of the previous age in the same group (Two Way ANOVA followed by the Fisher LSD *post hoc* test); n – number of animals in the group.

ствия, что согласуется с результатами наших предыдущих исследований с меньшим сроком наблюдения [12] и свидетельствует о принципиальной воспроизводимости данной модели эмоционально-мотивационных расстройств. В настоящем исследовании выявлено, что нарушения поведения сохраняются у животных, как минимум, до 7-месячного возраста (на протяжении всего периода наблюдения) и сопровождаются активацией ГГА-оси.

Мы не выявили межгрупповых различий в горизонтальной и вертикальной активности крыс в нестрессогенных условиях — при комнатной освещенности не-

большого по площади аОП. Однако при сходном уровне освещенности в стрессогенных условиях ПКЛ у животных, подвергнутых действию дипротина А, двигательная активность на обоих сроках наблюдения была выше контрольных значений, а в возрасте 7 мес исследовательская активность также превысила контрольный уровень. У крыс контрольной группы мы не наблюдали изменения числа стоек в ПКЛ, однако выявили снижение исследовательских оценок риска по снижению свешиваний с ОР [29], что, вероятно, связано с увеличением уровня тревожности [30]. У крыс опытной группы не было статистически значимых изменений в величине



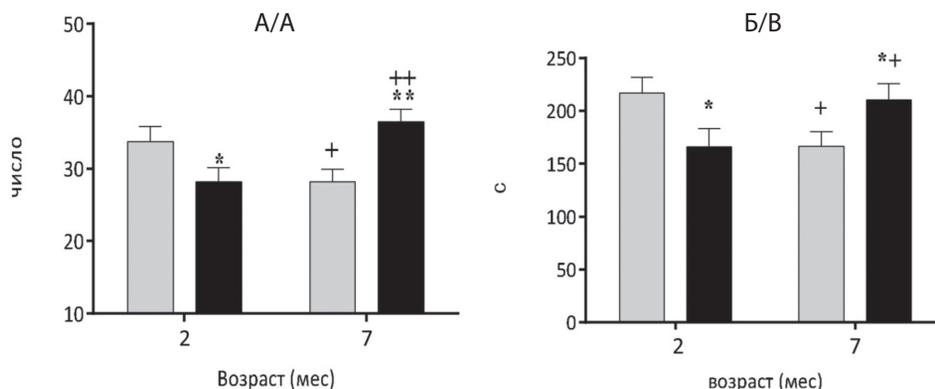
**Рис. 1.** Число (А) и длительность (с) (Б) свеживаний с открытых рукавов, число эпизодов (В) и длительность (с) (Г) груминга в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» у крыс с неонатальным введением физиологического раствора (серые столбики) и дипротина А (черные столбики) в возрасте 2 и 7 мес. Медиана обозначена жирной чертой, границы столбика – Q1, Q3 (первый и третий квартили), разброс – минимальные и максимальные значения.

# $p < 0.01 < p_{кр}$ ; ## $p < 0.001 < p_{кр}$ ;  $p_{кр} < + p < 0.05$  по сравнению со значением в той же группе крыс в возрасте 2 мес; \*\* $p < 0.01 < p_{кр}$  по сравнению со значением в контрольной группе крыс в возрасте 2 мес (по двустороннему критерию Манна-Уитни с поправкой на множественность сравнений методом FDR-контроля);  $p_{кр} = 0.0125$  (здесь и далее).

**Fig. 1.** The number (A) and duration (s) (B) of head dipping in the open arms, the number of episodes (C) and duration (s) (D) of grooming in the “Elevated Plus Maze” test in rats with neonatal administration of saline (gray bars) and diprotin A (black bars) at the age of 2 and 7 months. A bold line indicates the median, the boundaries of the columns are Q1, Q3 (the first and third quartiles), the spread is the minimum and maximum values. # $p < 0.01 < p_{cr}$ ; ## $p < 0.001 < p_{cr}$ ;  $p_{cr} < + p < 0.05$  in comparison with the rats at the age of 2 months in the same group; \*\* $p < 0.01 < p_{cr}$  in comparison with the rats at the age of 2 months in the control group (two-tailed Mann-Whitney  $U$ -test with correction for multiple comparisons using the FDR control technique);  $p_{cr} = 0.0125$  (here and further).

показателей свешиваний с ОР. По аналогии с интерпретацией изменения этих показателей у крыс контрольной группы результаты косвенно свидетельствуют об отсутствии повышения уровня тревожности у взрослых крыс

опытной группы. Следует отметить, что после неонатального введения дипротина А у крыс в возрасте 2 мес было обнаружено снижение выраженности груминга, и, в отличие от контрольных животных, не было вы-



**Рис. 2.** Показатели неагрессивного взаимодействия в тесте социальных контактов у крыс, подвергнутых неонатальному действию дипротина А (черный цвет) и контрольных животных, которым вводили физиологический раствор (серый цвет).

А – число неагрессивных контактов; Б – длительность неагрессивных контактов.

Число пар крыс в возрасте 2 мес и 7 мес составило в контрольной группе 14 и 16, соответственно; в опытной группе – 14 и 15, соответственно. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$  по сравнению со значением показателя в контрольной группе крыс того же возраста; + $p < 0.05$ ; ++ $p < 0.01$  по сравнению со значением показателя в той же группе на предыдущем сроке тестирования (по Fisher LSD-тесту после Two Way ANOVA).

**Fig. 2.** Indicators of non-aggressive interaction in the social contact test in rats neonatally exposed to diprotin A (black) and control animals exposed to saline (gray).

A – The number of non-aggressive contacts; B – The duration of non-aggressive contacts.

The number of pairs of rats at the age of 2 and 7 months was 14 and 16 for the control group, respectively, and 14 and 15 for the experimental group, respectively.

\* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$  in comparison with the control rats of the same age; + $p < 0.05$ ; ++ $p < 0.01$  in comparison with the rats of the previous age in the same group (Two Way ANOVA followed by the Fisher LSD *post hoc* test).

Таблица 4 / Table 4

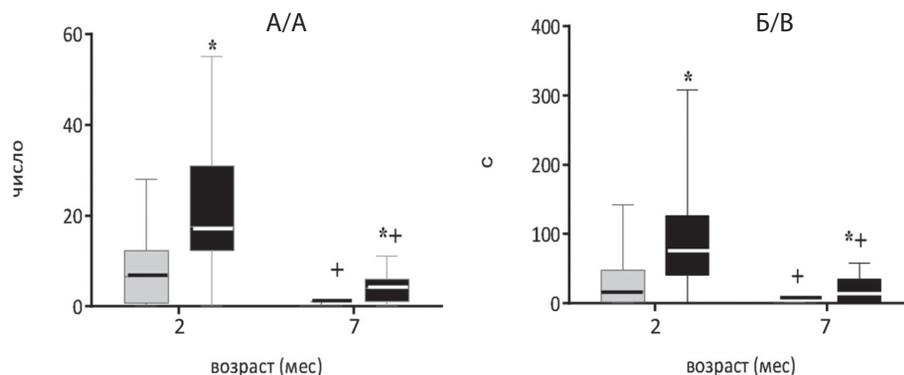
**Показатели поведения в тесте принудительного плавания у крыс, получавших неонатально ингибитор ДПП-IV дипротин А или физиологический раствор**

**Behavior indices in the forced swimming test in rats treated neonatally with the DPP-IV inhibitor diprotin A or saline solution**

Показатели	Группы			
	2 мес		7 мес	
	физиологический раствор (n = 30)	дипротин А (n = 33)	физиологический раствор (n = 29)	дипротин А (n = 31)
Длительность активного плавания, с	77.1 ± 50.4	75.9 ± 46.0	110.2 ± 49.5	94.6 ± 45.0
Длительность пассивного плавания, с	505.6 ± 61.6	519.2 ± 52.1	484.9 ± 51.2	494.7 ± 41.4
Длительность иммобильности, с	0,0 [0,0;5,0]	4,0 [0,0; 10,0]	2,0 [0,0; 6,0]	5,5 [0,0; 15,0]
Число периодов активного плавания	6.5 [5,0; 12,0]	7,0 [5,0; 10,0]	7,0 [5,0; 8,0]	6,0 [4,0; 8,0]
Число периодов иммобильности (до 6 с)	3.5 [3,0; 4,0]	5,0 [3,0; 14,0]	4,0 [2,0; 5,0]	5,0 [4,0; 11,0]#
Индекс депрессивности	0.5 [0,3; 0,6]	0.75 [0,4; 2,0]+	0.4 [0,2; 0,5]	1.2 [0,6; 2,0]**

**Примечание.** \*\* $p < 0.01 < p_{кр}; p_{кр} < \#p < 0.05$ ; + $p = 0.078$  по сравнению со значением показателя в контрольной группе крыс на том же сроке наблюдения (по непарному непараметрическому критерию Манна-Уитни с поправкой на множественность сравнений методом FDR-контроля); n – число животных в группе.

**Note.** \*\* $p < 0.01 < p_{cr}; p_{cr} < \#p < 0.05$ ; + $p = 0.078$  in comparison with the rats of the same age in the control group (two-tailed Mann-Whitney *U*-test with correction for multiple comparisons using the FDR control technique); n – number of animals in the group.



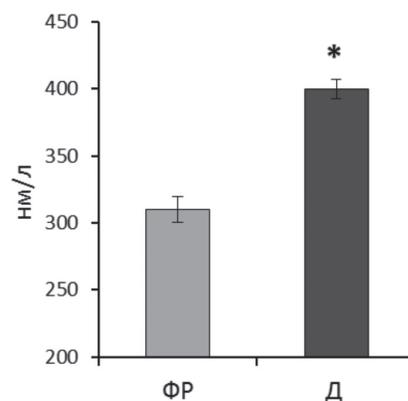
**Рис. 3.** Показатели агрессивного взаимодействия в тесте социальных контактов у крыс, подвергнутых действию дипротина А (черный цвет) в период с 5-го по 18-й постнатальные дни, и контрольных животных, которым вводили физиологический раствор (серый цвет). Остальные обозначения как на рис. 1.

А – число агрессивных контактов; Б – длительность агрессивных контактов. Число пар крыс в группах указано в подписи к рис. 2. \* $p < 0.001 < p_{кр}$  по сравнению со значением показателя в контрольной группе того же возраста; + $p < 0.001 < p_{кр}$  по сравнению со значением показателя в той же группе на предыдущем сроке тестирования (по двустороннему U-критерию Манна-Уитни с поправкой на множественность сравнений методом FDR-контроля).

**Fig. 3.** Indicators of aggressive interaction in the social contact test in rats exposed to diprotin A (black) at 5 to 18 postnatal days and in the control animals exposed to saline (gray). The other designations as in Fig. 1. A – The number of aggressive contacts; B – The duration of aggressive contacts. The number of pairs of rats in groups is indicated in the caption to Fig. 2. \* $p < 0.001 < p_{cr}$  in comparison with the rats of the same age in the control group; + $p < 0.001 < p_{cr}$  in comparison with the rats of the previous age in the same group (two-tailed Mann-Whitney U-test with correction for multiple comparisons using the FDR control technique).

явлено его снижения в возрасте 7 мес. Интерпретация этологического показателя аутогруминга противоречива, однако многие исследователи разделяют представления о том, что этот тип поведения проявляется у грызунов в ситуациях, связанных со стрессом и конфликтом и не связан с уровнем тревожности [см. обзор 31]. Если исходить из этих представлений, то можно полагать, что снижение груминга у крыс опытной группы отражает их меньшую реактивность в стрессогенной ситуации, то есть свидетельствует об устойчивости к стрессу. У крыс опытной группы в ПКЛ было выявлено возрастание скорости перемещения, величины пробега, числа и длительности стоек, что, в совокупности с данными об отсутствии у них снижения с возрастом числа и длительности свешиваний с ОР, можно рассматривать как признаки формирования и длительного сохранения гиперактивного фенотипа после неонатального действия дипротина А. В пользу этой гипотезы свидетельствуют результаты, полученные в тесте социального взаимодействия, – увеличение числа и длительности неагрессивных социальных контактов в возрасте 7 мес у крыс опытной группы.

Результаты настоящего исследования хорошо согласуются с результатами работ, выполненных на грызунах с модификациями гена, кодирующего ДПП-IV. У крыс F344 со спонтанной мутацией гена *dpp4*, приводящей к почти полной потере ферментативной ак-



**Рис. 4.** Уровень кортикостерона в сыворотке крови крыс в возрасте 7.5 мес, которым вводили дипротин А (Д, 2 мг/кг) с 5-го по 18-й постнатальные дни, и контрольных животных, которым по той же схеме вводили физиологический раствор (ФР). \* $p < 0.05$  по сравнению со значением показателя в группе ФР (по двустороннему U-критерию Манна-Уитни).

**Fig. 4.** Blood serum corticosterone concentration in rats aged 7.5 months who were neonatally exposed to diprotin A (Д, 2 mg/kg) at 5 to 18 postnatal days, and control animals exposed to saline (ФР) according to the same scheme. \* $p < 0.05$  in comparison with the ФР group (two-tailed Mann-Whitney U-test).

тивности ДПП-IV, формируется стрессоустойчивый поведенческий фенотип, проявляющийся в снижении уровня тревожности в ПКЛ, усилении исследо-

вательской активности, увеличении продолжительности социального взаимодействия, а также в ряде других поведенческих и физиологических процессов [32-34]. Двигательная и исследовательская гиперактивность, то есть, повышенная поведенческая активация в условиях новизны выявлена у мышей с генотипом CD26-/- [35]. Авторы полагают, что подобные эффекты опосредуются через изменение взаимодействия белков-субстратов ДПП-IV (в первую очередь, нейропептида Y) с разными типами рецепторов в структурах мозга, отвечающих за реализацию стресс-реакции.

В нашей работе, наряду с признаками гиперактивности, у крыс с неонатальным действием дипротина А отмечены эмоционально-мотивационные нарушения, выявляемые в виде повышенной агрессивности в тесте социального взаимодействия и симптомов депрессивно-подобного поведения в тесте принудительного плавания.

Результаты экспериментальных исследований, свидетельствующие о вовлечении ДПП-IV в депрессивно-подобное поведение, противоречивы. Мыши, мутантные по гену CD26-/-, демонстрировали признаки снижения депрессивности по увеличению длительности пассивного плавания в тестах принудительного плавания и подвешивания за хвост [35]. Однако у крыс линии F344 с генетически сниженным уровнем функциональной активности ДПП-IV такого эффекта не наблюдали [32]. В нашем исследовании депрессивно-подобное поведение выявлялось только по биоритмологическим показателям плавания. Отсутствие изменений по таким общепринятым показателям, как длительность пассивного и активного плавания в этом тесте ставит под сомнение влияние неонатального действия дипротина А на депрессивную симптоматику на поздних сроках наблюдения. Напротив, повышение агрессивности, наблюдаемое у крыс опытной группы в возрасте как 2, так и 7 мес, можно отнести к устойчивым эффектам дипротина А на представленной модели эмоционально-мотивационных нарушений.

В научной литературе единичны исследования возможного участия ДПП-IV в реализации агрессивного поведения, однако есть работы, в которых показана прямая взаимосвязь между активностью ДПП-IV в сыворотке крови и агрессивностью у детей [36], работы, в которых приводятся доказательства вовлеченности субстратов ДПП-IV (в частности, нейропептида Y) в запуск и реализацию агрессии [37]. Имеются также данные о том, что отклоняющееся от нормы функционирование ГГА-оси часто сопровождается аномальной агрессивностью, а низкая или высокая реактив-

ность ГГА-оси в период развития связана с появлением агрессивных фенотипов [см. обзор 38].

Недавние исследования на животных показывают, что ДПП-IV функционирует как модулятор активности ГГА-оси и реакции на стресс [34, 39]. Возможно, действие ингибитора ДПП-IV в раннем постнатальном периоде повлияло на состояние ГГА-оси и изменило стресс-реактивность крыс.

### Заключение

Данные настоящего исследования свидетельствуют о развитии гиперактивного фенотипа и длительных психоэмоциональных нарушений в виде повышенной агрессивности наряду с длительной активацией ГГА-оси у взрослых крыс, подвергнутых действию дипротина А в ПНД 5–18. На основании полученных результатов можно высказать предположение о существовании патогенетической взаимосвязи между индуцированными неонатальным действием ингибитора ДПП-IV нарушениями поведения и состоянием ГГА-оси. Данные подтверждают развиваемые нами представления об участии дипептидилпептидазы-IV в генезе психоэмоциональных расстройств.

### Литература

(п.п. 1-14; 17-18; 20-25; 27-39 см. References)

15. Хлебникова Н.Н., Крупина Н.А., Кушнарева Е.Ю. Уровень кортикостерона в сыворотке крови крыс при экспериментальном моделировании депрессивно-подобных состояний. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2013; 4: 3-9.
16. Хлебникова Н.Н., Крупина Н.А. Экспериментальное тревожно-депрессивное состояние у крыс, вызванное неонатальным действием ингибитора дипептидилпептидазы-IV дипротина А: эффекты имипрамина. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2017; 61(4): 4-12.
19. Крупина Н.А., Кушнарева Е.Ю., Хлебникова Н.Н., Золотов Н.Н., Крыжановский Г.Н. Экспериментальная модель тревожно-депрессивного состояния у крыс, вызванная введением ингибитора дипептидилпептидазы IV метионил-2(S)-цианопирролидина в раннем постнатальном периоде. *Журнал высшей нервной деятельности имени И.П. Павлова*. 2009; 59(3): 360-72.
26. Шетинин Е.В., Батурин В.А., Арушанян Э.Б., Ованесов К.Б., Попов А.В. Биоритмологический подход к оценке принудительного плавания как экспериментальной модели «депрессивного» состояния. *Журнал высшей нервной деятельности имени И.П. Павлова*. 1989; 39(5): 958-64.

### References

1. Ropa J., Broxmeyer H.E. An expanded role for dipeptidyl peptidase 4 in cell regulation. *Curr Opin Hematol*. 2020; 27(4): 215-24.
2. Garcia-Gil M., Camici M., Allegrini S., Pesi R., Tozzi M.G. Metabolic Aspects of Adenosine Functions in the Brain. *Front Pharmacol*. 2021; 12: 672182.
3. Rodrigues-Amorim D., Rivera-Baltanás T., Fernández-Palleiro P., Iglesias-Martínez-Almeida M., Freiria-Martínez L., Jarmardo-Ro-

- driguez C., et al. Changes in the brain extracellular matrix composition in schizophrenia: a pathophysiological dysregulation and a potential therapeutic target. *Cell Mol Neurobiol*. 2021; Mar 12. <https://doi.org/10.1007/s10571-021-01073-8> Online ahead of print.
4. Zhong J., Rao X., Rajagopalan S. An emerging role of dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) beyond glucose control: potential implications in cardiovascular disease. *Atherosclerosis*. 2013; 226(2): 305-14.
  5. Maremanda K.P., Sundar I.K., Li D., Rahman I. Age-Dependent assessment of genes involved in cellular senescence, telomere, and mitochondrial pathways in human lung tissue of smokers, COPD, and IPF: Associations With SARS-CoV-2 COVID-19 ACE2-TMPRSS2-Furin-DPP4 Axis. *Front Pharmacol*. 2020; 11:584637.
  6. Golub Y., Stonawski V., Plank A.C., Eichler A., Kratz O., Waltes R., et al. Anxiety is associated with DPPIV alterations in children with selective mutism and social anxiety disorder: A Pilot Study. *Front Psychiatry*. 2021 Jun 29; 12: 644553.
  7. Wagner L., Klemann C., Stephan M., von Hörsten S. Unravelling the immunological roles of dipeptidyl peptidase 4 (DPP4) activity and/or structure homologue (DASH) proteins. *Clin Exp Immunol*. 2016; 184: 265–83.
  8. Ahrén B. Glucose-lowering action through targeting islet dysfunction in type 2 diabetes: Focus on dipeptidyl peptidase-4 inhibition. *J Diabetes Investig*. 2021; 12(7): 1128-135.
  9. Sakurada C. Development of a new analgesic based on metabolism of endomorphin, an endogenous opioid peptide. *YAKUGAKU ZASSHI*. 2004; 124(8): 549-54. (In Japanese)
  10. Subrahmanyam N.A., Koshy R.M., Jacob K., Pappachan J.M. Efficacy and Cardiovascular Safety of DPP-4 Inhibitors. *Curr Drug Saf*. 2021; 16(2): 154-64.
  11. Krupina N.A., Kushnareva E.Yu., Khlebnikova N.N., Zolotov N.N., Kryzhanovskii G.N. Behavioral changes in rats induced by a dipeptidyl peptidase IV inhibitor methionyl-2(s)-cyanopyrrolidine: experimental model of anxiety-depression disorder. *Bull Exp Biol Med*. 2009; 147(3): 285-90.
  12. 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. Pub. Date: April 15, 2016.
  13. Stetler C., Miller G.E. Depression and Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Activation: A Quantitative Summary of Four Decades of Research. *Psychosom. Med*. 2011; 73: 114–26.
  14. Nishi M., Horii-Hayashi N., Sasagawa T. Effects of early life adverse experiences on the brain: implications from maternal separation models in rodents. *Front. Neurosci*. 2014 Jun 17; 8: 166.
  15. Khlebnikova N.N., Krupina N.A., Kushnareva E.Y. Blood serum corticosterone level in modeling depression-like states in rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2013; (4): 3-9. (In Russian)
  16. Khlebnikova N.N., Krupina N.A. Experimental anxiety-depressive state in rats caused by neonatal exposure to the inhibitor of dipeptidyl peptidase IV, diprotin A: effects of imipramine. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya*. 2017; 61 (4): 4-12. (In Russian)
  17. Ptak C., Petronis A. Epigenetic approaches to psychiatric disorders. *Dialogues Clin. Neurosci*. 2010; 12(1): 25–35.
  18. Zubkov E.A., Zorkina Y.A., Orshanskaya E.V., Khlebnikova N.N., Krupina N.A., Chekhonin V.P. Changes in gene expression profiles in adult rat brain after neonatal action of dipeptidyl peptidase-IV inhibitors. *Neuropsychobiology*. 2017; 76(2): 89–99.
  19. Krupina N.A., Kushnareva E.Yu., Khlebnikova N.N., Zolotov N.N., Kryzhanovskii G.N. Experimental model of anxiety-depression state in rats exposed to inhibitor of dipeptidyl peptidase IV methionyl-2(S)-cyano-pyrrolidine in early postnatal period. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti imeni I.P. Pavlova*. 2009; 59(3): 360-72. (In Russian)
  20. Calabrese E.J. An assessment of anxiolytic drug screening tests: hormetic dose responses predominate. *Crit Rev Toxicol*. 2008; 38(6): 489-542.
  21. Belzung C., Griebel G. Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behav Brain Res*. 2001; 125(1-2): 141–49.
  22. Millan M.J. The neurobiology and control of anxious states. *Prog Neurobiol*. 2003; 70(2): 83–244.
  23. Pellow Sh., Chopin Ph., File S.E., Briley M. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Neuroscience Meth*. 1985; 14(3): 149-67.
  24. Porsolt R.D., Anton G., Blavet N., Jalfre M. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol*. 1978; 47(4): 379-91.
  25. Overstreet D.H., Pucilowski O., Rezvani A.H., Janowsky D.S. Administration of antidepressants, diazepam and psychomotor stimulants further confirms the utility of Flinders Sensitive Line rats as an animal model of depression. *Psychopharmacology (Berl)*. 1995; 121(1): 27-37.
  26. Shchetinin E.V., Baturin V.A., Arushanian E.B., Ovanesov K.B., Popov A.V. A biorhythmic approach to evaluating forced swimming as an experimental model of a “depressive” state. *Zhurnal vysshey nervnoy deyatel'nosti imeni I.P. Pavlova*. 1989; 39(5): 958-64. (In Russian)
  27. Niesink R.J.M., van Ree J.M. Involvement of opioid and dopaminergic systems in isolation-induced pinning and social grooming of young rats. *Neuropharmacology*. 1989; 28(4): 411–18.
  28. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J. R. Stat. Soc. Ser. B*. 1995; 57: 289-300.
  29. De Jesús-Burgos M., Torres-Llenza V., Pérez-Acevedo N.L. Activation of amygdalar metabotropic glutamate receptors modulates anxiety, and risk assessment behaviors in ovariectomized estradiol-treated female rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2012; 101(3): 369–78.
  30. O'Leary, T.P., Gunn, R.K., Brown, R.E. What are we measuring when we test strain differences in anxiety in mice? *Behav. Genet*. 2013; 43: 34-50.
  31. Ennaceur A. Tests of unconditioned anxiety – Pitfalls and disappointments. *Physiol Behav*. 2014; 135: 55–71.
  32. Karl T., Hoffmann T., Pabst R., von Horsten S. Extreme reduction of dipeptidyl peptidase IV activity in F344 rat substrains is associated with various behavioral differences. *Physiol Behav*. 2003; 80: 123–34.
  33. Frerker N., Raber K., Bode F., Skripuletz T., Nave H., Klemann C., et al. Phenotyping of congenic dipeptidyl peptidase 4 (DP4) deficient Dark Agouti (DA) rats suggests involvement of DP4 in neuro-, endocrine, and immune functions. *Clin Chem Lab Med*. 2009; 47(3): 275-87.
  34. Canneva F., Golub Y., Distler J., Dobner J., Meyer S., von Hörsten S. DPP4-deficient congenic rats display blunted stress, improved fear extinction and increased central NPY. *Psychoneuroendocrinology*. 2015; 53: 195-206.
  35. El Yacoubi M., Vaugeois J.M., Marguet D., Sauze N., Guieu R., Costentin J., et al. Behavioral characterization of CD26 deficient

- mice in animal tests of anxiety and antidepressant-like activity. *Behav Brain Res.* 2006; 171(2): 279-85.
36. Frenssen F., Croonenberghs J., Van den Steene H., Maes M. Prolyl endopeptidase and dipeptidyl peptidase IV are associated with externalizing and aggressive behaviors in normal and autistic adolescents. *Life Sci.* 2015; 136: 157-62.
37. Karl T., Herzog H. Behavioral profiling of NPY in aggression and neuropsychiatric diseases. *Peptides.* 2007; 28(2): 326-33.
38. Walker S.E., Papilloud A., Huzard D., Sandi C. The link between aberrant hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity during development and the emergence of aggression-Animal studies. *Neurosci Biobehav. Rev.* 2018; 91: 138-52.
39. Golub Y., Schildbach E.M., Touma C., Kratz O., Moll G.H., von Hörsten S., Canneva F. Role of hypothalamus-pituitary-adrenal axis modulation in the stress-resilient phenotype of DPP4-deficient rats. *Behav Brain Res.* 2019; 356: 243-49.

**Сведения об авторах:**

**Хлебникова Надежда Николаевна**, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. общей патологии нервной системы, e-mail: nanich@yandex.ru;

**Крупина Наталья Александровна**, доктор биол. наук, гл. науч. сотр. лаб. общей патологии нервной системы;

**Ширенова Софья Дмитриевна**, аспирант, мл. науч. сотр. лаб. общей патологии нервной системы.