

ВЛИЯНИЕ D-СЕРИНА НА ТРЕВОЖНО-ПОДОБНОЕ ПОВЕДЕНИЕ И СПОСОБНОСТЬ К ПРОСТРАНСТВЕННОМУ ОБУЧЕНИЮ КРЫС ЛИНИИ ГК, СЕЛЕКЦИОНИРОВАННЫХ НА ПРЕДРАСПОЛОЖЕННОСТЬ К КАТАТОНИЧЕСКИМ РЕАКЦИЯМ

© 2021 г. О. И. Прокудина^{1,*}, Т. А. Алехина¹

¹ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

*e-mail: petrenko@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 12.03.2021 г.

После доработки 13.08.2021 г.

Принята к публикации 31.08.2021 г.

В настоящее время накапливаются доказательства важной роли ко-агониста глицинового сайта NMDA-рецепторов D-серина в патогенезе психических расстройств. В литературе обсуждается возможность коррекции когнитивных нарушений и негативной симптоматики при шизофрении с его помощью. Учитывая терапевтический потенциал D-серина, представляется важным исследовать его действие на экспериментальных моделях патологического поведения. Данная работа проведена на крысах линии ГК (“генетические кататоники”), предлагаемых как модель кататонических нарушений, и на крысах Вистар, не склонных к кататоническим реакциям. Во многих исследованиях используются достаточно высокие дозы D-серина, при этом уже установлено, что введение больших доз препарата имеет отрицательные побочные эффекты. Цель данной работы – исследовать влияние низких доз D-серина на поведение в тестах светло-темной камеры, приподнятого крестообразного лабиринта и на способность к обучению в лабиринте Барнс у крыс линии ГК, а также у контрольных животных. В данной работе показано, что на крыс Вистар внутрибрюшинное введение 50 мг/кг D-серина оказало как анксиолитический, так и прокогнитивный эффекты. У крыс линии ГК доза 100 мг/кг снизила двигательную активность в приподнятом крестообразном лабиринте, введение 50 мг/кг D-серина снизило двигательную активность в лабиринте Барнс, но не повлияло на время нахождения убежища.

Ключевые слова: кататония, каталепсия, тревожность, обучение, D-серин, линия ГК

DOI: 10.31857/S0044452921060085

D-серин является эндогенным ко-агонистом глицинового сайта связывания глутаматных NMDA-рецепторов, играющих важнейшую роль в психических функциях. С гипофункцией глутаматергической передачи через NMDA-рецепторы связывают патогенез такого тяжелого заболевания, как шизофрения [1]. При шизофрении может наблюдаться целый спектр нарушений. Выделяют позитивные (бред, галлюцинации, психомоторное возбуждение), негативные (дефицит воли, социальный дефицит, каталепсия) и когнитивные симптомы (расстройство внимания, снижение памяти и др.) шизофрении. Считается, что позитивная симптоматика лучше поддается купированию соответствующими антипсихотическими препаратами, тогда как негативные симптомы и когнитивные нарушения трудно поддаются фармакологической коррекции [2, 3]. При этом когнитивные расстройства играют значимую роль в формировании шизофренического дефекта, и диагностируются при различных видах шизофрении [4, 5], что делает

актуальным поиск новых терапевтических агентов. В настоящее время в литературе обсуждается вклад D-серина в патогенез шизофрении [6, 7]. Некоторые клинические испытания подтверждают, что при шизофрении терапия D-серином, в дополнение к традиционному антипсихотическому лечению, может облегчать негативные симптомы, и улучшать когнитивные функции [8–11]. У здоровых людей также обнаружен положительный эффект D-серина при возрастных изменениях познавательных функций мозга [12]. Экзогенное введение D-серина стимулирует NMDA-рецепторы, не вызывая эксайтотоксических эффектов, следующих за введением прямых агонистов NMDA-рецепторов или самого глутамата [13].

Показана связь D-серина с патологическими состояниями и на экспериментальных моделях. Мыши с генотипом SR –/–, с нокаутом гена серин-рацемазы (фермента синтеза D-серина), и обладающие сниженным на 85% уровнем D-серина в коре и гиппокампе, демонстрируют высокую го-

мологию нейропатологических и когнитивных показателей, связанных с шизофренией [7]. На трансгенных моделях [14] и в экспериментах с использованием антагониста NMDA-рецепторов фенциклидина [15] продемонстрированы анксиолитический, антидепрессивный и прокогнитивный эффекты D-серина. Показано, что введение D-серина крысам может предотвратить вызванное стрессом нарушение когнитивных функций [16].

Открытым остается вопрос о безопасных и эффективных дозах препарата [10]. Во многих работах [14–16], посвященных изучению влияния D-серина на поведение, используются достаточно высокие дозы вещества (до 3 г/кг). При этом показано возникновение двигательных нарушений у животных [17, 18], и нефротоксичность у людей [19, 20] при приеме высоких доз D-серина.

Учитывая терапевтический потенциал D-серина, представляется важным исследовать его действие на модели патологического поведения. В ИЦиГ СО РАН из крыс линии Вистар путем селекции на усиленную реакцию пассивно-оборонительного застывания была получена линия ГК (названная так от первых букв слов “генетические кататоники”). Накопленные данные позволяют рассматривать линию ГК как модель кататонических нарушений [21–23]. Кататонические расстройства, включающие в себя как акинетический полюс (кататонический ступор и каталепсию), так и гиперкинетический – кататоническое возбуждение, у человека наблюдаются при целом спектре заболеваний (шизофрения, аффективные расстройства и другие). Застывание крыс линии ГК, на которое проводился отбор, выражалось в неподвижной вертикальной позе с элементами “восковой гибкости”, возникающей в ответ на прижатие животного палочкой-тестером к стенке клетки и сохраняемой после того, как тестер убирался. В дальнейшую селекцию отбирались те животные, у которых удавалось вызвать застывание не менее 10 сек в нескольких тестах. Отбор на предрасположенность к каталепсии привел не только к повышению частоты и интенсивности застывания, но и к увеличению частоты встречаемости крыс с повышенной возбудимостью – оборонительном поведении с вокализацией, пароксизмальным бегством и прыжками при манипуляциях с ними. Эти формы поведения у каждой особи могут либо сочетаться друг с другом в разной степени, либо сменять одна другую [24, 25].

Цель нашей работы – исследовать влияние низких доз D-серина на тревожно-подобное поведение и на способность к обучению крыс линии ГК, предрасположенных к кататоническим реакциям.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные животные

В исследовании использовались взрослые (6.5–7 мес) самцы крыс линий ГК, в качестве контроля использованы крысы Вистар, не предрасположенные к кататоническим реакциям. Животные содержались в конвенциональном виварии Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск) при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. За 3 дня до начала тестирования интактные крысы рассаживались в индивидуальные клетки, в которых содержались до конца эксперимента. Размер групп составлял 8–11 животных. Содержание крыс и экспериментальные процедуры находятся в соответствии с международными нормами этического обращения с животными и принципами Базельской декларации, а также одобрены Биоэтической комиссией ИЦиГ СО РАН (протокол № 43 от 28.09.2018).

Схема эксперимента

В первой группе животных изучалось тревожно-подобное поведение: на 4-й день после рассадки проводился тест светло-темной камеры, на 6-й – тест приподнятого крестообразного лабиринта. Во второй группе животных на 4-й день после рассадки начиналось исследование способности к пространственному обучению в лабиринте Барнс. Перед каждым животным установка для тестирования очищалась с помощью 70% раствора этанола. Тестирование проводилось с 14:00 до 18:00 при искусственном освещении, в изолированном помещении с фиксацией на видеокамеру без присутствия экспериментатора. Видеозаписи обрабатывались исследователем, “слепым” к условиям эксперимента. Для каждого анализируемого параметра фиксировались число, длительность и латентный период проявления паттерна; в каждом тесте оценивался уровень дефекации.

Тест светло-темной камеры (СТК)

СТК состояла из двух отсеков (темного и светлого) размером 30 × 30 × 30 см, соединенных круглым отверстием. Высаживание проводилось в светлый отсек освещенностью 350 люкс. Освещенность темного отсека составляла 10 люкс. С помощью программы полуавтоматической регистрации поведенческих паттернов Real Timer (ООО “НПК Открытая Наука”, Москва) в течение 5 мин оценивались: время в светлом отсеке, стойки на задних лапах и груминг (умывание) в светлом отсеке, число переходов между отсеками, неполные выходы из темного отсека с последующим возвращением (stretched-attend posture, SAP), эпизоды застывания (полной неподвижности без движений головы) в светлом отсеке.

Тест приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ)

ПКЛ состоял из двух открытых и двух закрытых сбоку (высота стенок 40 см) рукавов длиной 50 см и шириной 10 см, расположенных на высоте 60 см. Уровень освещенности в открытых рукавах составлял 350 люкс, в закрытых — 130 люкс. Высаживание крысы проводилось в центр, мордой в открытый рукав, в сторону, противоположную экспериментатору. В течение 5 минут оценивались стойки, груминг, переходы между рукавами, неполные выходы из закрытого рукава с последующим возвращением (stretched-attend posture, SAP), свешивания головы/плеч с открытого рукава вниз (head-dipping), эпизоды застывания (полной неподвижности без движения головы), длительность нахождения в различных частях лабиринта.

Пространственное обучение

Лабиринт Барнс используется для оценки пространственного обучения и памяти и основан на инстинктивном стремлении грызунов к избеганию открытых пространств и предпочтению закрытых, темных отсеков [26]. Тестирование проводилось в установке производства ООО «НПК Открытая наука», модель TS1101-R (диаметр поля 122 см, на периферии поля расположено 18 лунок). Уровень освещенности на поверхности лабиринта составлял 350 люкс. По четырем сторонам от лабиринта на стенах были размещены контрастные изображения геометрических фигур (на расстоянии от центра около 1.5 м). Процедура тестирования включала в себя трехминутные сессии с обучением (1 раз в день в течение 5 дней) и проверку навыка (на 7 день) [27]. Оценивались латентный период захода в целевую лунку (закрытый отсек), длина пройденного пути до захода в целевую лунку, средняя скорость перемещения. Видеотрекинг и регистрация поведенческих параметров проводились с использованием программы EthoVision XT 15 (Noldus).

Введение препаратов

За 45 минут до каждого помещения в установку для тестирования крысам проводилась внутрибрюшинная инъекция объемом 1 мл/кг веса. Животным контрольных групп вводился физиологический раствор (0.9%), животным экспериментальных групп — D-серин (Sigma-Aldrich), растворенный в физиологическом растворе (0.9%). При исследовании тревожно-подобного поведения использовали D-серин в дозах 50 и 100 мг/кг, при исследовании способности к обучению в дозе 50 мг/кг. В работе [28] было показано, как отсутствие нефротоксичности D-серина для крыс в выбранных нами дозах, так и то, что введение относительно малых доз D-серина вызывает увеличение его уровня в плазме крови выше базального.

Статистика

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (Stat Soft, USA). Проверка нормальности распределения проводилась с помощью критерия Колмогорова—Смирнова. Для данных, имеющих нормальное распределение, применялись методы параметрической статистики. Результаты обучения в лабиринте Барнс обработаны с помощью дисперсионного анализа ANOVA для повторных измерений (в качестве факторов были взяты день обучения и введение препарата), post-hoc анализ сделан с использованием критерия Tukey HSD. Сравнение результатов, полученных при проверке навыка, проведено с помощью One-Way ANOVA. На рисунках представлены средние значения и ошибка среднего ($M \pm SEM$). Статистически значимыми считали различия при $p < 0.05$. В случаях, когда проверка данных не подтверждала нормальность распределения, при дальнейшей обработке использовались методы непараметрической статистики. Для анализа результатов использовали дисперсионный анализ Kruskal—Wallis ANOVA. Апостериорные межгрупповые сравнения проводились с использованием критерия Манн—Уитни с учетом поправки Бонферрони на множественные сравнения (для трех групп критический уровень значимости был принят $p < 0.017$). В таблицах результаты представлены в виде медианы и межквартильного интервала ($Me [Q1—Q3]$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние D-серина на тревожно-подобное поведение

Влияние препарата на исследованные параметры в тесте светло-темной камеры у крыс линий ГК и Вистар посредством Kruskal—Wallis ANOVA не обнаружено. Как показатели, характеризующие тревожно-подобное поведение в СТК (латентный период захода в темный отсек, число выходов в светлый отсек из темного), исследовательскую активность, так и длительность застывания в светлом отсеке не изменились под влиянием D-серина. В отношении застывания стоит отметить, что крысы Вистар практически не проявляли этой формы поведения — только у одного животного из контрольной группы был зафиксирован один эпизод застывания длительностью 3.7 сек. У крыс ГК застывание в светлом отсеке СТК наблюдалось у большинства животных во всех группах (у 66.7% животных контрольной группы, у 63.6%, получавших D-серин в дозе 50 мг/кг, и у 60% — в дозе 100 мг/кг).

В тесте ПКЛ обнаружены некоторые изменения в поведении животных под воздействием D-серина. Паттерны поведения, для которых был показан эффект введения препарата, у крыс Вистар приведены в табл. 1. Межгрупповые различия, получен-

Таблица 1. Влияние D-серина на поведение в тесте ПКЛ крыс Вистар

Паттерны поведения Me [Q1–Q3]	Доза D-серина			Эффект дозы (Kruskal–Wallis ANOVA): H (2, n = 29)
	0 мг/кг (контроль) n = 8	50 мг/кг n = 11	100 мг/кг n = 10	
Время в центре, сек	7.2 [1.5–17.3]	24.7 [9.9–29.7]	2.8 [0.8–11.5]	6.49 (p < 0.05)
Лат. период захода в закрытый рукав, сек	2.1 [1.5–3.0]	22.1 [5.1–42.1]	1.7# [1.3–5.5]	7.84 (p < 0.05)
Число заходов в закрытые рукава	3.5 [1.5–7]	6.0 [5.0–9.0]	2.5# [2.0–5.0]	6.25 (p < 0.05)
Общее число заходов в рукава	4.5 [3.0–9.0]	10.0 [8.0–12.0]	4.5# [3.0–8.0]	6.65 (p < 0.05)
Неполный выход из закрытого рукава, N	4.5 [2.0–6.0]	5.0 [4.0–8.0]	1.5# [1.0–4.0]	6.30 (p < 0.05)
Свешивания с открытого рукава, N	0.0 [0.0–1.5]	4.0* [2.0–5.0]	0.0 [0.0–6.0]	7.30 (p < 0.05)
Свешивания с открытого рукава, сек	0.0 [0.0–0.8]	1.7* [0.9–6.5]	0.0 [0.0–8.2]	6.30 (p < 0.05)
Лат. период свешивания с открытого рукава, сек	301 [165.6–301]	11.2* [7.1–25.6]	301# [30.3–301]	12.5 (p < 0.01)
Грумминг, N	3.0 [1.0–4.5]	0.0* [0.0–0.0]	2.5# [1.0–6.0]	10.79 (p < 0.01)
Грумминг, сек	12.7 [0.3–35.7]	0.0* [0.0–0.0]	14.5# [1.0–6.0]	8.86 (p < 0.05)
Лат. период грумминга, сек	169.5 [127.6–259.5]	301* [301–301]	205.2# [98.8–269.9]	9.09 (p < 0.02)

Примечание: * – $p < 0.017$: 50 мг/кг D-серина vs. 0 мг/кг D-серина (контроль);

– $p < 0.017$: 50 мг/кг D-серина vs. 100 мг/кг D-серина.

ные с учетом поправки на множественные сравнения, отмечены символами.

Крысы Вистар, получавшие 50 мг/кг D-серина, демонстрируют в ПКЛ увеличение длительности и числа свешиваний с открытых рукавов вниз (head-dipping) и снижение смещенной активности (груминг) по сравнению с контрольной группой. Эти изменения можно рассматривать как свидетельство анксиолитического действия D-серина этой дозе [29, 30]. Также у крыс, получавших 50 мг/кг D-серина, снижена смещенная активность и повышена двигательная и исследовательская активность по сравнению с животными, получавшими D-серин в дозе 100 мг/кг. Отличий между крысами Вистар, получавшими 100 мг/кг D-серина, и контрольной группой не обнаружено.

Паттерны поведения, для которых был показан эффект введения D-серина, у крыс линии ГК представлены в табл. 2. Крысы линии ГК, получавшие 100 мг/кг препарата (табл. 2) продемонстрировали в ПКЛ снижение двигательной активности.

Кроме общепринятых параметров в тесте ПКЛ мы оценивали реакцию застывания. У крыс Вистар мы не зафиксировали застывания ни у одной особи. У всех крыс линии ГК в тесте ПКЛ наблюдались эпизоды застывания разной длительности. Влияние введения D-серина этот параметр не обнаружено. Но, тем не менее, мы бы хотели отметить некоторое снижение латентного периода застывания у крыс ГК, получавших 100 мг/кг ($p < 0.05$) по сравнению с группой, получавшей 50 мг/кг, несмотря на то, что достоверного эффекта препарата посредством анализа Kruskal–Wallis ANOVA на этот признак не получено ($H(2, n = 28) = 4.4, p < 0.1$).

Влияние D-серина на пространственное обучение в лабиринте Барнс

Для проверки влияния D-серина на пространственное обучение была использована доза 50 мг/кг в группе интактных животных. Для крыс Вистар было показано влияние дня обучения на ла-

Таблица 2. Влияние D-серина на поведение в тесте ПКЛ крыс линии ГК

Паттерны поведения Me [Q1–Q3]	Доза D-серина			Эффект дозы (Kruskal–Wallis ANOVA): H(2, n = 28)
	0 мг/кг (контроль) n = 8	50 мг/кг n = 10	100 мг/кг n = 10	
Время в центре, сек	16.9 [11.4–33.3]	17.2 [12.8–34.0]	7.9 [7.3–10.2]	7.23 ($p < 0.03$)
Число заходов в открытые рукава	2.5 [1.0–3.0]	2.0 [2.0–2.0]	1.0 * # [0.0–1.0]	8.0 ($p < 0.02$)
Число заходов в закрытые рукава	4.0 [2.0–4.5]	2.5 [2.0–4.0]	2.0 * [1.0–3.0]	6.1 ($p < 0.05$)
Общее число заходов в рукава	5.0 [5.0–8.0]	5.5 [4.0–7.0]	2.5 * # [2.0–4.0]	10.9 ($p < 0.004$)

Примечание: * – $p < 0.017$: 100 мг/кг D-серина vs. 0 мг/кг D-серина (контроль);

– $p < 0.017$: 50 мг/кг D-серина vs. 100 мг/кг D-серина.

тентный период нахождения убежища ($F(4.56) = 20.88$, $p < 0.001$). Также для них было обнаружено взаимодействие факторов препарата и дня обучения: $F(4.56) = 2.71$, $p < 0.04$. На 2-й день обучения экспериментальные животные показали большее время до захода в убежище ($p < 0.05$), рис. 1. Для пройденной дистанции был показан эффект дня обучения ($F(4.56) = 3.03$, $p < 0.03$) с меньшим значением в 5-й день по сравнению с 1-м ($p < 0.03$). Для скорости перемещения крыс Вистар также был показан эффект дня обучения: $F(4.56) = 14.16$, $p < 0.001$, с увеличением ее к 5-му дню обучения.

При проверке навыка у крыс Вистар, получавших D-серин, были обнаружены меньшая пройденная дистанция ($p < 0.05$) и меньшее время до захода в целевую лунку ($p < 0.05$) по сравнению с контрольными животными, что свидетельствует о более эффективном поиске убежища [31]. Скорость перемещения крыс Вистар в исследуемых группах не отличалась (рис. 2).

Для крыс линии ГК показано влияние дня обучения на латентный период нахождения убежища ($F(4.76) = 15.02$, $p < 0.0001$). Эффекта препарата, а также взаимодействия факторов дня обучения и введения препарата на время нахождения убежища не обнаружено. Для дистанции, пройденной до убежища, показаны эффекты дня обучения ($F(4.76) = 9.60$, $p < 0.0001$) и препарата ($F(1,19) = 9.08$, $p < 0.008$), взаимодействие факторов не обнаружено. Животные, получавшие D-серин, прошли меньшую дистанцию ($p < 0.008$). Для скорости перемещения обнаружен только эффект дня обучения ($F(4.76) = 11.42$, $p < 0.001$) с возрастанием скорости в 5-й день по сравнению со скоростью в 1-й, 2-й, 3-й и 4-й дни ($p < 0.001$ для всех). При проверке навыка у крыс ГК было обнаружено, что животные, получавшие препарат, прошли меньшую дистанцию по сравнению с контрольными ($p < 0.05$),

латентный период нахождения убежища и скорость перемещения не отличались (рис. 3).

Таким образом, в лабиринте Барнс D-серин в дозе 50 мг/кг оказал прокогнитивный эффект на крыс Вистар и снизил двигательную активность у крыс ГК.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В литературных источниках имеются данные об анксиолитических и прокогнитивных эффектах D-серина [14, 15, 33]. В отношении когнитивных способностей результаты, полученные нами на крысах линии Вистар, находятся в согласии с данными других исследователей. Так, у мышей было

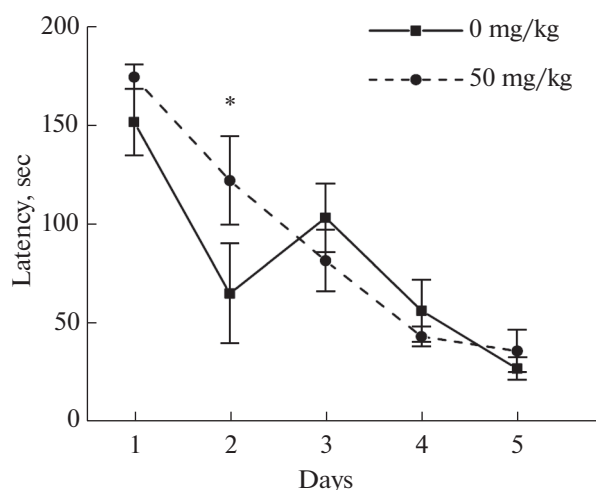


Рис. 1. Время нахождения убежища в лабиринте Барнс крысами Вистар в процессе обучения. Обозначения: * – $p < 0.05$: 0 мг/кг D-серина (контрольная группа) vs. 50 мг/кг D-серина. Значения представлены как $M \pm SEM$, $n = 8$.

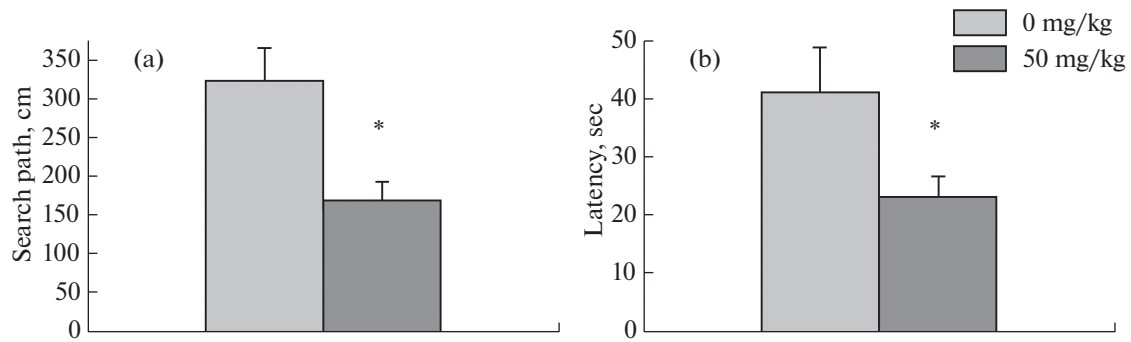


Рис. 2. Длина пути и время нахождения убежища крысами Вистар при проверке навыка. Обозначения: * – $p < 0.05$: 0 мг/кг D-серина (контрольная группа) vs. 50 мг/кг D-серина. (а) Путь до убежища. (б) Латентный период нахождения убежища. Значения представлены как $M \pm SEM$, $n = 8$.

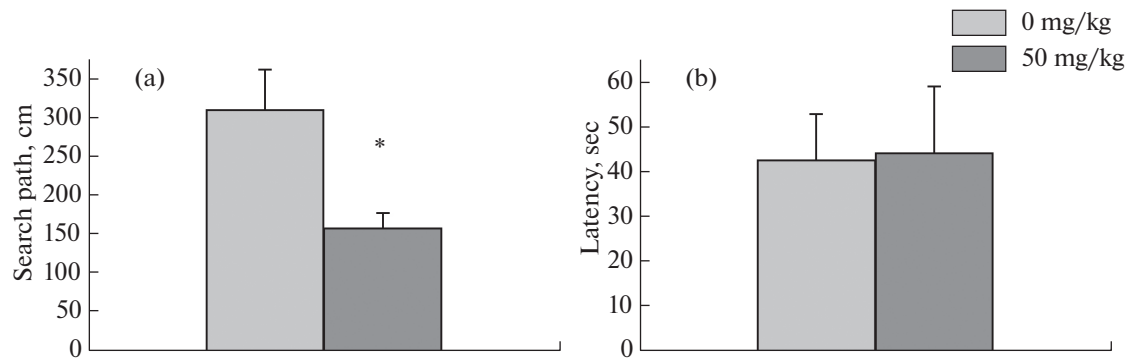


Рис. 3. Длина пути и время нахождения убежища крысами ГК при проверке навыка. Обозначения: * – $p < 0.05$: 0 мг/кг D-серина (контрольная группа) vs. 50 мг/кг D-серина. Значения представлены как $M \pm SEM$, $n = 10-11$.

показано улучшение показателей рабочей памяти и распознавания объектов, сопровождающееся увеличением уровня D-серина в гиппокампе, при введении 50 мкг/кг препарата [33]. Введение крысам 100 мг/кг D-серина за 40 мин до тестирования оказывало прокогнитивный эффект при обучении в водном лабиринте Морриса [34]. У крыс ГК не обнаружено изменение времени нахождения убежища под влиянием препарата, но обнаружено снижение пройденного пути до убежища как в процессе обучения, так и при проверке навыка. С одной стороны, более короткий путь считается показателем лучшей обучаемости [26, 31], с другой стороны, это может отражать снижение двигательной активности под воздействием D-серина.

Для исследования тревожно-подобного поведения широко применяются тесты светло-темной камеры и приподнятого крестообразного лабиринта [29, 30]. В тесте СТК нам не удалось обнаружить анксиолитические эффекты использованных доз D-серина ни у одной из линий. Полученные в нашей работе результаты свидетельствуют об анксиолитическом эффекте D-серина для крыс Вистар в дозе 50 мг/кг в ПКЛ, тогда как введение 100 мг/кг D-серина такого действия не оказало. Для D-сери-

на описана зависимость эффекта и дозы в виде перевернутой U-образной кривой [35]. Например, при исследовании обучения в водном тесте Морриса было показано улучшение когнитивных функций только при использовании средней из использованных доз. В этой же работе показано, что большая доза D-серина не ведет большей к активации NMDA-рецепторов. Возможно, уменьшение ответа NMDA-рецепторов на более высокую дозу D-серина связано с интернализацией NMDA-рецепторов [36]. Для частичного агониста глицинового сайта связывания NMDA-рецепторов D-циклосерина, схожего по функциям с D-серином, также показаны U-образная зависимость эффекта и дозы [37]. С другой стороны, ранее исследователями было продемонстрировано снижение тревожно-подобного поведения при использовании больших доз (1000 мг/кг) D-серина в ПКЛ [32].

В отличие от крыс Вистар, введение D-серина крысам кататонической линии ГК в дозе 50 мг/кг не вызвало изменений в ПКЛ, а введение препарата в дозе 100 мг/кг вызвало снижение двигательной активности у крыс линии ГК в этом тесте. В литературных источниках приводятся данные об отсутствии эффекта препарата на локомоцию даже в

больших дозах (1000 мг/кг) у крыс Спрейг-Доули [32], однако эксперимент был проведен не на интактных животных, а подвергавшихся операции. Существуют данные об анксиогенном эффекте D-серина в тесте приподнятого крестообразного лабиринта при введении в DRAG, дорсальную часть периаквадуктального серого вещества [38]. Также интересно отметить, что для D-циclosерина на крысах Вистар показана зависимость эффектов препарата от базового уровня тревожности животных [39, 40]. Исследователями был обнаружен анксиогенный эффект D-циclosерина в тесте ПКЛ у высокотрвожных животных, и сделано предположение о том, что сайт связывания глицина NR1-субъединицы NMDA-рецепторов вовлечен в реализацию индивидуальных различий в уровне тревожности [40]. Ранее нами была показана предрасположенность к тревожно-подобному поведению у крыс линии ГК по сравнению с контрольными животными Вистар [22]. Возможно, обнаруженные генотипические различия по поведенческому ответу на D-серин могут быть связаны с тем же нейробиологическим субстратом, который обеспечивает различия в уровне тревожности у крыс Вистар и ГК.

Таким образом, в данном исследовании обнаружены модифицирующие эффекты внутрибрюшинного введения малых доз D-серина на поведение крыс. Эти эффекты проявляются по-разному на фоне разных генотипов. Механизмы, отвечающие за обнаруженные изменения поведения, требуют дополнительного исследования. Полученные результаты убедительно свидетельствуют в пользу применения дифференциального подхода к использованию D-серина в качестве терапевтического средства.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа поддержана грантом РФФИ № 17-04-01631-А, бюджетным проектом № 0259-2021-0016 и выполнена с использованием оборудования ЦКП “Центр генетических ресурсов лабораторных животных” ФИЦ ИЦиГ СО РАН, поддержанного Минобрнауки России (Уникальный идентификатор проекта RFMEFI62119X0023).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (О.И.П.), сбор данных (О.И.П., Т.А.А.), обработка данных (О.И.П.), написание и редактирование манускрипта (О.И.П., Т.А.А.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Kantrowitz J., Javitt D.C.* (2012) Glutamatergic transmission in schizophrenia: from basic research to clinical practice. *Curr Opin Psychiatry* 25 (2): 96–102. <https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e32835035b2>
2. *Kawaura K., Koike H., Kinoshita H., Kambe H., Kaku A., Karasawa J., Chaki S., Hikichi H.* (2015) Effects of a glycine transporter-1 inhibitor and D-serine on MK-801-induced immobility in the forced swimming test in rats. *Behav Brain Res* 278: 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.09.046>
3. *Stepnicki P., Kondej M., Kaczor A.A.* (2018) Current Concepts and Treatments of Schizophrenia. *Molecules* 23: 2087. <https://doi.org/10.3390/molecules23082087>
4. *Elvevag B., Goldberg T.E.* (2000) Cognitive impairment in schizophrenia is the core of the disorder. *Crit Rev Neurobiol* 14: 1–21.
5. *Ross C.A., Margolis R.L., Reading S.A.J., Pletnikov M., Coyle J.T.* (2006). Neurobiology of schizophrenia. *Neuron* 52: 139–153.
6. *Cho S.E., Na K.S., Cho S.J., Kang S.G.* (2016) Low d-serine levels in schizophrenia: A systematic review and meta-analysis. *Neurosci Lett* 634: 42–51. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2016.10.006>
7. *Coyle J., Balu T.* (2018) The Role of Serine Racemase in the Pathophysiology of Brain Disorders. *Adv Pharmacol* 82: 35–56. <https://doi.org/10.1016/bs.apha.2017.10.002>
8. *Labrie V., Wong A., Roder J.C.* (2012) Contributions of the D-serine pathway to schizophrenia. *Neuropharmacology* 62: 1484–1503. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.01.030>
9. *Kantrowitz J., Malhotra A., Cornblatt B., Silipo G., Balla A., Suckow R., D'Souza C., Saksa J., Woods S., Javitt D.* (2010) High dose D-serine in the treatment of schizophrenia. *Schizophr Res* 121: 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2010.05.012>
10. *Kantrowitz J.T., Epstein M.L., Lee M., Lehrfeld N., Nolan K.A., Shope C., Petkova E., Silipo G., Javitt D.C.* (2018) Improvement in mismatch negativity generation during d-serine treatment in schizophrenia: Correlation with symptoms. *Schizophr Res* 191: m70–79. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2017.02.027>
11. *Panizzutti R., Fisher M., Garrett C., Man W.H., Sena W., Madeira C., Vinogradov S.* (2019) Association between increased serum D-serine and cognitive gains induced by intensive cognitive training in schizophrenia. *Schizophr Res* 207: 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.schres.2018.04.011>
12. *Avellar M., Scoriels L., Madeira C., Vargas-Lopes C., Marques P., Dantas C., Manhães A., Leite H., Panizzutti R.* (2016) The effect of D-serine administration on cognition and mood in older adults. *Oncotarget* 7 (11): 11881–11888. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7691>
13. *Coyle J.T., Basu A., Benneyworth M., Balu D., Konopaske G.* (2012) Glutamatergic synaptic dysregulation in schizophrenia: Therapeutic implications. *Handb Exp Pharmacol* 213: 267–295. https://doi.org/10.1007/978-3-642-25758-2_10

14. *Otte D.M., Arellano de M.L.B., Bilkei-Gorzo A., Alabayram O., Imbeault S., Jeung H., Alferink J., Zimmer A.* (2013) Effects of Chronic D-Serine Elevation on Animal Models of Depression and Anxiety-Related Behavior. *PLOS ONE* 8 (6): e67131. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067131>
15. *Andersen J., Pouzet B.* (2004) Spatial memory deficits induced by perinatal treatment of rats with PCP and reversal effect of D-serine. *Neuropsychopharmacology* 29: 1080–1090. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300394>
16. *Guercio G.D., Bevicitori L., Vargas-Lopes C., Madeira C., Oliveira A., Carvalho V.F., d'Avila JC, Panizzutti R* (2014) D-serine prevents cognitive deficits induced by acute stress. *Neuropharmacology* 86: 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2014.06.021>
17. *Chen X.G., Wang Y.H., Wen C.C., Chen Y.H.* (2014) Overdose of D-serine Induces Movement Disorder and Neuromuscular Changes of Zebrafish Larvae. *J Toxicol Pathol* 27: 19–24. <https://doi.org/10.1293/tox.2013-0032>
18. *Rais R., Thomas A.G., Wozniak K., Wu Y., Jaaro-Peled H., Sawa A., Strick C.A., Engle S.J., Brandon N.J., Rojas C., Slusher B.S., Tsukamoto T.* (2012) Pharmacokinetics of oral D-serine in D-amino acid oxidase knockout mice. *Drug Metab Dispos* 40 (11): 2067–2073. <https://doi.org/10.1124/dmd.112.046482>
19. *Ganote C.E., Peterson D.R., Carone F.A.* (1974) The nature of D-serine-induced nephrotoxicity. *Am J Pathol* 77 (2): 269–282.
20. *Krug A.W., Volker K., Dantzer W.H., Silbernagl S.* (2007) Why is D-serine nephrotoxic and alpha-aminoisobutyric acid protective? *Am. J. Physiol. Renal Physiol* 293: 382–390. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00441.2006>
21. *Колпаков В.Г., Куликов А.В., Алехина Т.А., Чугуй В.Ф., Петренко О.И., Барыкина Н.Н.* (2004) Кататония или депрессия? Линия крыс ГК – генетическая животная модель психопатологии. *Генетика* 40 (6): 1–7. [*Kolpakov V.G., Kulikov A.V., Alekhina T.A., Chuguy V.F., Petrenko O.I., Barykina N.N.* (2004) Catatonia or depression: The GC rat strain as an animal model of psychopathology. *Genetics (Moscow)* 40 (6): 827–834. (In Russ)] <https://doi.org/10.1023/B:RUGE.0000033315.79449.d4>
22. *Kulikov A.V., Kolpakov V.G., Popova N.K.* (2006) The genetic cataleptic (GK) rat strain as a model of depression disorders. In: *Kalueff AV* (ed) *V. Animal models in biological psychiatry*, 1st edn. Nova Science Pub Inc, New York 59–73.
23. *Рязанова М.А., Прокудина О.И., Плеканчук В.С., Алехина Т.А.* (2017) Экспрессия генов системы катехоламинов в среднем мозге и реакция престаимпульного торможения у крыс с генетической кататонией. *Вавиловский журнал генетики и селекции* 21 (7): 798–803. [*Ryazanova M.A., Prokudina O.I., Plekanchuk V.S., Alekhina T.A.* (2017) Expression of catecholaminergic genes in the midbrain and prepulse inhibition in rats with a genetic catatonia. *Vavilovskij žurnal genetiki i selekcii* 21 (7): 798–803. (In Russ)]. <https://doi.org/10.18699/VJ17.296>
24. *Барыкина Н.Н., Алехина Т.А., Чугуй В.Ф., Петренко О.И., Плюснина И.Ф., Колпаков В.Г.* (2004) Биполярное проявление каталептического типа реагирования у крыс. *Генетика* 40 (3): 1–7. [*Barykina N.N., Alekhina T.A., Chuguy V.F., Petrenko O.I., Plyusnina I.F., Kolpakov V.G.* (2004) Bipolyarnoe proyavlenie katalepтического типа reagirovaniya u kryss. *Genetika* 40 (3): 1–7. (In Russ)].
25. *Алехина Т.А., Прокудина О.И., Чугуй В.Ф., Шихевич С.Г., Барыкина Н.Н., Колпаков В.Г.* (2005) Двойственное проявление кататонической реакции у крыс. *Журн. высш. нерв. Деятельности* 55 (4): 536–542. [*Alekhina T.A., Prokudina O.I., Chuguy V.F., Shihovich S.G., Barykina N.N., Kolpakov V.G.* (2005) Dvoystvennoe proyavlenie katonicheskoy reakcii u kryss. *ZHurn. vyssh. nerv. Deyatel'nosti* 55 (4): 536–542. (In Russ)].
26. *Barnes C.A.* (1979) Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 93 (1): 74–104. <https://doi.org/10.1037/h0077579>
27. *Stansley B.J., Yamamoto B.K.* (2015) Behavioral impairments and serotonin reductions in rats after chronic L-dopa. *Psychopharmacology (Berl)* 232 (17): 3203–3213. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-3980-4>
28. *Hasegawa H., Masuda N., Natori H., Shinohara Y., Ichida K.* (2019) Pharmacokinetics and toxicokinetics of D-serine in rats. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 162: 264–271. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.09.026>
29. *Walf A.A., Frye C.A.* (2007) The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc* 2 (2): 322–328. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.44>
30. *Rodgers R.J., Johnson N.J.* (1995) Factor analysis of spatiotemporal and ethological measures in the murine elevated plus-maze test of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav* 52:297–303. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(95\)00138-m](https://doi.org/10.1016/0091-3057(95)00138-m)
31. *Gawel K., Gibula E., Marszalek-Grabska M., Filarowska J., Kotlinska H.J.* (2019) Assessment of spatial learning and memory in the Barnes maze task in rodents - methodological consideration. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 392 (1): 1–18. <https://doi.org/10.1007/s00210-018-1589-y>
32. *Wang X.Q., Zhong X.L., Li Z.B., Wang H.T., Zhang J., Li F., Zhang J.Y., Dai R.P., Xin-Fu Z., Li C.Q., Li Z.Y., Bi F.F.* (2015) Differential roles of hippocampal glutamatergic receptors in neuropathic anxiety-like behavior after partial sciatic nerve ligation in rats. *BMC Neurosci* 16: 14. <https://doi.org/10.1186/s12868-015-0150-x>
33. *Bado P., Madeira C., Vargas-Lopes C., Moulin T.C., Wasilewska-Sampaio A.P., Maretti L., de Oliveira R.V., Amaral O.B., Panizzutti R.* (2011) Effects of low-dose D-serine on recognition and working memory in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 218 (3): 461–470. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2330-4>
34. *Stouffer E.M., Petri H.L., Devan B.D.* (2004) Effect of d-serine on a delayed match-to-place task for the water maze. *Behav Brain Res* 152: 447–452. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.10.008>
35. *Zhang Z., Gong N., Wang W., Xu L., Xu T.L.* (2008) Bell-shaped D-serine actions on hippocampal long-term depression and spatial memory retrieval. *Cereb Cortex* 18

- (10): 2391–2401.
<https://doi.org/10.1093/cercor/bhn008>
36. Nong Y., Huang Y.O., Ju W., Kalia L.V., Ahmadian G., Wang Y.T., Salter M.W. (2003) Glycine binding primes NMDA receptor internalization. *Nature* 422 (6929): 302–307.
<https://doi.org/10.1038/nature01497>
37. Rodgers R.J., Howard K., Stewart S., Waring P., Wright F.L. (2010) Anxiolytic profile of glycineB receptor partial agonist, D-cycloserine, in plus-maze-naïve but not plus-maze-experienced mice. *Eur J Pharmacol* 646 (1–3): 31–37.
<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.08.005>
38. Schmitt M.L., Coelho W., Lopes-de-Souza A.S., Guimarães F.S., Carobrez A.P. (1995) Anxiogenic-like effect of glycine and D-serine microinjected into dorsal periaqueductal gray matter of rats. *Neurosci Lett* 189: 93–96.
[https://doi.org/10.1016/0304-3940\(95\)11459-a](https://doi.org/10.1016/0304-3940(95)11459-a)
39. Wu S.L., Hsu L.S., Tu W.T., Wang W.F., Huang Y.T., Pawlak C.R., Ho Y.J. (2008) Effects of d-cycloserine on the behavior and ERK activity in the amygdala: Role of individual anxiety levels. *Behav Brain Res* 187: 246–253.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.09.013>
40. Ho Y.J., Hsu L.S., Wang C.F., Hsu W.Y., Lai T.J., Hsu C.C., Tsai Y.F. (2005) Behavioral effects of d-cycloserine in rats: the role of anxiety level. *Brain Res* 1043: 179–185.
<https://doi.org/10.1016/j.brainres.2005.02.057>

Effect of D-serine on Anxiety-like Behavior and Spatial Learning Ability of GC Rats Selected for the Predisposition to Catatonic Reactions

O. I. Prokudina^{a, #} and T. A. Alekhina^a

^a *Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia*

[#] *e-mail: petrenko@bionet.nsc.ru*

Evidence is accumulating for an important role of D-serine, a co-agonist of the NMDA receptor glycine site, in the pathogenesis of psychiatric disorders. According to various literature sources, D-serine may contribute to correcting cognitive impairments and negative symptoms in schizophrenia. Given the therapeutic potential of D-serine, it seems important to investigate its effect on experimental models of pathological behavior. This study was carried out on GC rats, proposed as a model of catatonic disorders, and Wistar rats, undisposed to catatonic reactions. In numerous studies, D-serine is used at fairly high doses, although it has been established that high doses of D-serine elicit adverse side effects. The goal of this work was to investigate the effect of low D-serine doses on the behavior of both GC rats and control Wistar rats in the light-dark box and elevated plus maze tests, as well as on their learning ability in the Barnes maze. It was found that intraperitoneal injection of 50 mg/kg D-serine had both anxiolytic and procognitive effects on Wistar rats. In GC rats, a D-serine dose of 100 mg/kg reduced locomotor activity in the elevated plus maze test, while at 50 mg/kg, D-serine reduced locomotor activity in the Barnes maze, but did not affect the latency to escape.

Keywords: catatonia, catalepsy, anxiety, learning, D-serine, GC rats