

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ. НАУЧНАЯ СТАТЬЯ
EXPERIMENTAL PHYSIOLOGY. RESEARCH ARTICLE

DOI: 10.22363/2313-0245-2020-24-4-315-324

Комплексное воздействие кофеина и диоксидина в тесте Порсолта на поведенческие реакции мышей

Н.А. Дурнова, А.Ю. Каретникова, Д.С. Исаев, А.Р. Кланцатая,
А.С. Шереметьева

Саратовский государственный медицинский университет
им. В.И. Разумовского, г. Саратов, Российская Федерация

Аннотация. *Актуальность.* В свете популяризации употребления кофеинсодержащих продуктов открытым остается вопрос о сочетанном применении кофеина с веществами, проявляющими токсический эффект. Также недостаточно изучены дозы кофеина, оказывающие выраженный антидепрессантный эффект. *Целью исследования* являлось изучение влияния многократного введения кофеина и диоксидина на поведенческие реакции мышей в тесте Порсолта. *Материалы и методы.* Эксперимент был проведен на 36 беспородных мышках-самцах, разделенных на 6 групп. Опытные группы на протяжении 15 дней исследования получали кофеин в дозе 40 мг/кг (первая) или 100 мг/кг (вторая), диоксидин в дозе 200 мг/кг (третья), совместно кофеин 40 мг/кг или 100 мг/кг и диоксидин (четвертая и пятая группы соответственно). Животным группы контроля вводили физиологический раствор. Для изучения поведения проводили тест Порсолта, оценивая следующие показатели на 1-е, 8-е и 15-е сутки эксперимента: суммарное время иммобилизации, активного плавания, климбинга, количество актов груминга и отряхивания. *Результаты.* Введение кофеина в дозе 40 мг/кг вызывало увеличение времени активного плавания и снижение длительности иммобилизации на 8-е и 15-е сутки. При использовании кофеина в дозе 100 мг/кг было отмечено увеличение времени активного плавания при однократном воздействии, при продолжительности эксперимента 8–15 суток наблюдалось увеличение длительности иммобилизации. Диоксидин вызывал значительное снижение времени активного плавания и увеличение продолжительности иммобилизации на протяжении всех дней эксперимента. Сочетанное применение кофеина (40 мг/кг и 100 мг/кг) и диоксидина на 1-е сутки приводило к снижению иммобилизации и времени активного плавания. В обеих группах к 15-м суткам наблюдалась 100 % смертность животных. *Выводы.* Результаты проведенного исследования свидетельствуют о наличии антидепрессантного эффекта у кофеина в дозе 40 мг/кг на 8-е и 15-е сутки эксперимента и отсутствии этого влияния у кофеина в дозе 100 мг/кг при продолжительности введения 8–15 суток. Применение диоксидина приводило к отсутствию антидепрессивной активности и наличию обратного эффекта. Совместное введение кофеина (40 мг/кг и 100 мг/кг) и диоксидина приводило к 100 % смертности опытных групп к 15-м суткам эксперимента.

Ключевые слова: кофеин, диоксидин, тест Порсолта, поведенческие реакции

Вклад авторов. Концепция и дизайн исследования – все авторы; проведение эксперимента и получение данных – А.Ю. Каретникова, Д.С. Исаев, А.Р. Кланцатая; обработка данных и написание статьи – Н.А. Дурнова, А.С. Шереметьева,

© Дурнова Н.А., Каретникова А.Ю., Исаев Д.С., Кланцатая А.Р., Шереметьева А.С., 2020



This work is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

А.Ю. Каретникова; анализ и интерпретация результатов – Н.А. Дурнова, А.С. Шереметьева, А.Ю. Каретникова; утверждение рукописи для публикации – Н.А. Дурнова.

Заявление о конфликте интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 14.08.2020. Принята 11.09.2020.

Для цитирования: Дурнова Н.А., Каретникова А.Ю., Исаев Д.С., Кланцатая А.Р., Шереметьева А.С. Комплексное воздействие кофеина и диоксидина в тесте Порсолта на поведенческие реакции мышей // Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2020. Т. 24. № 4. С. 315–324. DOI: 10.22363/2313-0245-2020-24-4-315-324

Complex effect of caffeine and dioxidine on behavioral responses in mice in Porsolt test

N.A. Durnova, A. Yu. Karetnikova, D.S. Isaev, A.R. Klantsataya,
A.S. Sheremetyeva

Saratov State Medical University, Saratov, Russian Federation

Abstract. Relevance. In light of the popularization of the use of caffeine-containing products, the question of the combined use of caffeine with substances exhibiting a toxic effect remains open. The doses of caffeine, which have a pronounced antidepressant effect, are also insufficiently studied. *The aim of the study* was to study the effect of repeated administration of caffeine and dioxidine on the behavioral responses of mice in the Porsolt test. *Materials and methods.* The experiment was carried out on 36 outbred male mice, divided into 6 groups. Experimental groups for 15 days of the study received caffeine at a dose of 40 mg/kg (first) or 100 mg/kg (second), dioxidine at a dose of 200 mg/kg (third), together with caffeine 40 mg/kg or 100 mg/kg, and dioxidine (fourth and fifth groups, respectively). The animals of the control group were injected with saline. To study the behavior, the Porsolt test was carried out, evaluating the following indicators on the 1st, 8th and 15th days of the experiment: the total time of immobilization, active swimming, climb, the number of grooming and shaking off acts. *Results.* The administration of caffeine at a dose of 40 mg/kg caused an increase in the time of active swimming and a decrease in the duration of immobilization on the 8th and 15th days. When caffeine was used at a dose of 100 mg/kg, an increase in the time of active swimming was noted with a single exposure, with an experiment duration of 8–15 days, an increase in the duration of immobilization was observed. Dioxidine caused a significant decrease in the time of active swimming and an increase in the duration of immobilization during all days of the experiment. The combined use of caffeine (40 mg/kg and 100 mg/kg) and dioxidine on the 1st day led to a decrease in immobilization and the time of active swimming. In both groups, 100 % animal mortality was observed by the 15th day. *Conclusion.* The results of the study indicate the presence of an antidepressant effect in caffeine at a dose of 40 mg/kg on the 8th and 15th days of the experiment and the absence of this effect in caffeine at a dose of 100 mg/kg with a duration of administration of 8–15 days. The use of dioxidine led to the absence of antidepressant activity and the presence of the opposite effect. The combined administration of caffeine (40 mg/kg and 100 mg/kg) and dioxidine led to 100 % mortality in the experimental groups by the 15th day of the experiment.

Key words: caffeine, dioxidine, Porsolt's test, behavioral reactions

Author contributions. Concept and design of the study – all authors; experiment and data acquisition – A. Yu. Karetnikova, A.R. Klantsataya, D.S. Isaev; data processing and article writing – N.A. Durnova, A.S. Sheremetyeva, A. Yu. Karetnikova; analysis and interpretation of results – N.A. Durnova, A.S. Sheremetyeva, A. Yu. Karetnikova; approval of the manuscript for publication – N.A. Durnova.

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

Received 14.08. 2020. Accepted 11.09.2020

For citation: Durnova N.A., Karetnikova A. Yu., Isaev D.S., Klantsataya A.R., Sheremetyeva A.S. Complex effect of caffeine and dioxidine on behavioral responses in mice in Porsolt test. *RUDN Journal of Medicine*. 2020;24(4):315–324. DOI: 10.22363/2313-0245-2020-24-4-315-324

Введение

По оценкам ВОЗ, во всем мире от депрессии страдает более 264 миллионов человек из всех возрастных групп [1]. Депрессия – психическое расстройство, сопровождающееся комплексом симптомов, которые трудно полностью воспроизвести на лабораторных животных. Однако депрессия, как и многие психические расстройства, состоит из эндофенотипов, которые могут быть независимо воспроизведены и исследованы на моделях у животных. Одним из эндофенотипов в моделях депрессии является поведение отчаяния, которое может быть оценено в тесте принудительного плавания [2].

Кофеин традиционно является одним из общеизвестных психостимуляторов, тем не менее, некоторые исследования показывают, что кофеин в малых дозах оказывает стимулирующее воздействие на нервную систему, а при введении больших доз вызывает ее угнетение [3]. Кроме того, в ряде экспериментов кофеин демонстрирует антидепрессивную активность [4–7]. Несмотря на то, что эффекты кофеина многократно изучались, данные исследований зачастую оказывались противоречивыми, из-за чего сохраняется неоднозначность в полученных результатах [8].

Так, в настоящее время одним из перспективных аспектов изучения эффектов кофеина является оценка его влияния на поведенческие реакции животных [9, 10]. Имеются данные об исследовании на лабораторных крысах, в котором с помощью разнообразных экспериментальных методов доза 40 мг/кг определена как наиболее эффективно влияющая среди исследуемых доз (20, 40 и 80 мг/кг) на поведение лабораторных животных [11]. В другом исследовании при однократном введении кофеина

крысам в дозе 10 мг/кг отмечено увеличение двигательной активности экспериментальных животных, а введение кофеина в дозе 100 мг/кг не приводило к ее изменению [12].

Не менее важным в свете популяризации употребления кофеинсодержащих продуктов [13] является вопрос о сочетанном влиянии кофеина с другими веществами. Например, ранее в тестах принудительного плавания и подвешивания мышей за хвост показано, что хроническое введение низких доз кофеина (5 мг/кг) в течение 14 суток и его последующая отмена на 15 сутки и введение на 15 сутки неэффективных доз селективных ингибиторов обратного захвата серотонина усиливают их антидепрессантную активность [14]. Но изучение взаимодействия кофеина с веществами, способными проявлять токсический эффект, ранее не проводилось. В доклинических исследованиях в качестве вещества с доказанным цитотоксическим и мутагенным действием нередко используется диоксидин [15]. В то время как его влияние на поведенческие реакции животных, как при отдельном воздействии, так и при одновременном введении с другими веществами, исследовано не было.

Цель исследования: изучить влияние многократного введения кофеина и диоксидина на поведенческие реакции мышей в тесте Порсолта.

Материалы и методы

Экспериментальное исследование было проведено на 36 беспородных мышках-самцах возрастом 2 месяца и массой 35–40 г. Животные содержались в условиях вивария при постоянной температуре и влажности воздуха с 12-часовым световым циклом со свободным доступом к воде и пище.

Все эксперименты проводились с соблюдением правил лабораторной практики (приказ Минздравсоцразвития России от 23 августа 2010 г. № 708н) в соответствии с Женевской конвенцией «International Guiding Principles for Biomedical Involving Animals» (Geneva, 1990), Хельсинкской декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации о гуманном отношении к животным (редакция 2000 г.), Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых в эксперименте и других научных целях (Страсбург, 1986) ETS N123 и с одобрения этического комитета ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им В.И. Разумовского Минздрава России (протокол № 3 от 06.11.2018).

Лабораторные животные были разделены на шесть равных групп, по 6 особей в каждой: контрольную и пять опытных. В течение 15 дней исследования мыши опытных групп ежедневно получали внутривенно кофеин: первая в дозе 40 мг/кг, вторая – 100 мг/кг. Животным третьей опытной группы внутривенно вводили диоксидин в количестве 200 мг/кг [16]. Четвертой и пятой группе совместно вводили кофеин (40 мг/кг или 100 мг/кг) и диоксидин (200 мг/кг). Контрольной группе внутривенно инъецировали физиологический раствор в эквивалентном объеме.

Для изучения поведенческих реакций животных использовали тест принудительного плавания Порсолта [17], который проводили на 1-е, 8-е и 15-е сутки эксперимента. Проводили видеофиксацию плавания каждого животного, на основании которой оценивали следующие параметры: суммарное время иммобилизации, активного плавания, климбинга, количество актов груминга и отряхивания. Моментом окончания теста считали

погружение животного под водное зеркало. При использовании данной методики основными определяемыми значениями являются длительность активного плавания и иммобилизации. Причем продолжительность неподвижности является достоверным показателем депрессивного состояния животного [18].

Во время проведения эксперимента на 5-е сутки у животных всех групп были взяты образцы крови для цитогенетического анализа (часть III). На 15-е сутки мышей выводили из эксперимента путем декапитации под эфирным наркозом для забора крови и исследования биохимических показателей (часть II).

Полученные результаты обрабатывали при помощи прикладных статистических программ «STATISTICA 10» (StatSoft®, США). Для каждого исследуемого параметра вычисляли медиану (Me) и межквартильный размах. Значимыми считались изменения при $p < 0,05$. Достоверность полученных значений оценивали при помощи U-критерия Манна – Уитни.

Результаты и обсуждение

В ходе проведенного исследования установлено, что после введения кофеина и диоксидаина происходят изменения в поведенческих реакциях животных (время плавания и время иммобилизации), которые зависят от продолжительности проведения эксперимента и существенно отличаются от контрольной группы (табл. 1–3). Вместе с тем по количеству актов груминга и отряхивания все опытные группы на протяжении всех дней исследования значимо не изменялись, как по отношению к контролю, так и между собой.

Таблица 1

Показатели поведенческих реакций белых мышей при применении теста Порсолта при многократном введении кофеина и диоксидина на 1-е сутки эксперимента

Indicators of behavioral reactions of white mice using the Porsolt test with repeated administration of caffeine and dioxidine on the 1st day of the experiment

Table 1

Показатели/ Indicators	Группы животных / Groups of animals					
	Контроль/ Control	Первая опытная (Кофеин 40 мг/кг)/ The first experimental (Caffeine 40 mg/kg)	Вторая опытная (Кофеин 100 мг/кг)/ Second experimental (Caffeine 100 mg/kg)	Третья опытная (Диоксидин 200 мг/кг)/ Third experimental (Dioxidine 200 mg/kg)	Четвертая опытная (Кофеин 40 мг/кг + Диоксидин 200 мг/кг)/ The fourth experimental (Caffeine 40 mg/ kg + Dioxidine 200 mg/kg)	Пятая опытная (Кофеин 100 мг/кг + Диоксидин 200 мг/кг)/ Fifth experimental (Caffeine 100 mg/ kg + Dioxidine 200 mg/kg)
Активное плавание (с)/ Active swimming (s)	1009 (644; 1024)	734 (675; 777) $p_1=0,371$	1076 (1066; 1123) $p_1=0,003$ $p_3=0,003$	580 (350; 907) $p_1=0,432$ $p_3=0,371$ $p_4=0,1$	817 (742; 918) $p_1=0,520$ $p_2=0,174$ $p_3=0,030$	659 (632; 906) $p_1=0,830$ $p_2=0,432$ $p_4=0,432$
Иммобильность (с)/ Immobility (s)	78 (69; 110)	0 (0; 7) $p_1=0,002$	6 (2; 101) $p_1=0,197$ $p_3=0,239$	533 (326; 707) $p_1=0,224$ $p_3=0,001$ $p_4=0,008$	0 (0; 18) $p_1=0,012$ $p_2=0,002$ $p_3=0,060$	45 (8; 82) $p_1=0,022$ $p_2=0,003$ $p_4=0,025$
Климбинг (с)/ Climbing (s)	140 (77; 178)	58 (16; 77) $p_1=0,029$	102 (64; 121) $p_1=0,284$ $p_3=0,074$	139 (27; 155) $p_1=0,721$ $p_3=0,097$ $p_4=0,284$	250 (176; 365) $p_1=0,520$ $p_2=0,018$ $p_3=0,005$	139 (103; 196) $p_1=0,1$ $p_2=0,520$ $p_4=0,018$
Груминг (кол-во)/ Grooming (qty)	15 (2; 19)	7 (5; 9) $p_1=0,701$	7 (0; 25) $p_1=0,518$ $p_3=0,1$	7 (4; 10) $p_1=0,025$ $p_3=0,797$ $p_4=0,885$	0 (0; 2) $p_1=0,886$ $p_2=0,013$ $p_3=0,326$	1 (0; 2) $p_1=0,035$ $p_2=0,002$ $p_4=0,041$
Отряхивание (кол-во)/ Shaking off (qty)	11 (3; 14)	7 (0; 10) $p_1=0,123$	10 (0; 18) $p_1=0,886$ $p_3=0,514$	17 (5; 23) $p_1=0,017$ $p_3=0,063$ $p_4=0,281$	0 (0; 4) $p_1=0,351$ $p_2=0,014$ $p_3=0,244$	2 (1; 3) $p_1=0,025$ $p_2=0,005$ $p_4=0,470$

Примечания: в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили; p_1 – по сравнению с контролем, p_2 – по сравнению с третьей опытной группой, p_3 – по сравнению с первой опытной группой, p_4 – по сравнению со второй опытной группой.

Notes: median, upper and lower quartiles are given in each case; p_1 – compared with the control, p_2 – compared with the third experimental group, p_3 – compared with the first experimental group, p_4 – compared with the second experimental group.

У первой опытной группы, получавшей кофеин в дозе 40 мг/кг, на 1-е сутки эксперимента наблюдалось достоверное снижение климбинга на 58,5 % и отсутствие времени иммобилизации. Продолжительность активного плавания статистически

значимо не изменялась по сравнению контролем (таблица 1). При дальнейшем введении кофеина в течение 8-ми суток было отмечено достоверное увеличение времени активного плавания на 50,3 % и снижение продолжительности иммобилизации

на 93 %. Значения климбинга снижались недостоверно (таблица 2). На 15-е сутки исследования происходило достоверное увеличение времени актив-

ного плавания животных на 17 %. Статистически значимых изменений в показателях иммобилизации и климбинга выявлено не было (таблица 3).

Таблица 2

Показатели поведенческих реакций белых мышей при применении теста Порсолта при многократном введении кофеина и диоксидина на 8-е сутки эксперимента

Table 2

Indicators of behavioral reactions of white mice using the Porsolt test with repeated administration of caffeine and dioxidine on the 8th day of the experiment

Показатели/ Indicators	Группы животных / Groups of animals					
	Контроль/ Control	Первая опытная (Кофеин 40 мг/кг)/ The first experimental (Caffeine 40 mg/kg)	Вторая опытная (Кофеин 100 мг/кг)/ Second experimental (Caffeine 100 mg/kg)	Третья опытная (Диоксидин 200 мг/кг)/ Third experimental (Dioxidine 200 mg/ kg)	Четвертая опытная (Кофеин 40 мг/кг + Диоксидин 200 мг/кг)/ The fourth experimental (Caffeine 40 mg/kg + Dioxidine 200 mg/kg)	Пятая опытная (Кофеин 100 мг/кг + Диоксидин 200 мг/кг)/ Fifth experimental (Caffeine 100 mg/ kg + Dioxidine 200 mg/kg)
Активное плавание (с)/ Active swimming (s)	797 (684; 869)	1198 (1067; 1217) $p_1=0,008$	739 (702; 776) $p_1=0,263$ $p_3=0,003$	744 (601; 835) $p_1=0,481$ $p_3=0,005$ $p_4=0,869$	1007 (441; 1024) $p_1=0,604$ $p_2=0,378$ $p_3=0,371$	728 (393; 1063) $p_1=0,593$ $p_2=0,685$ $p_4=0,011$
Иммобильность (с)/ Immobility (s)	350 (207; 466)	24 (4; 30) $p_1=0,008$	72 (61; 83) $p_1=0,022$ $p_3=0,003$	519 (299; 648) $p_1=0,279$ $p_3=0,003$ $p_4=0,004$	263 (177; 446) $p_1=0,605$ $p_2=0,173$ $p_3=0,004$	474 (137; 810) $p_1=0,592$ $p_2=0,688$ $p_4=0,003$
Климбинг (с)/ Climbing (s)	24 (0; 79)	13 (3; 62) $p_1=0,943$	2 (0; 4) $p_1=0,080$ $p_3=0,432$	29 (6; 41) $p_1=0,887$ $p_3=0,943$ $p_4=0,018$	0 (0; 4) $p_1=0,071$ $p_2=0,027$ $p_3=0,928$	0 (0; 0) $p_1=0,080$ $p_2=0,018$ $p_4=0,418$
Груминг (кол- во)/ Grooming (qty)	0 (0; 3)	5 (1; 7) $p_1=0,141$	0 (0; 0) $p_1=0,049$ $p_3=0,006$	3 (0; 14) $p_1=0,258$ $p_3=0,829$ $p_4=0,028$	0 (0; 0) $p_1=0,334$ $p_2=0,073$ $p_3=0,405$	3 (0; 6) $p_1=0,563$ $p_2=0,676$ $p_4=0,058$
Отряхивание (кол-во)/ Shaking off (qty)	8 (3; 12)	5 (3; 7) $p_1=0,249$	0 (0; 0) $p_1<0,001$ $p_3=0,006$	4 (2; 10) $p_1=0,370$ $p_3=0,885$ $p_4=0,009$	1 (0; 3) $p_1=0,006$ $p_2=0,118$ $p_3=0,073$	0 (0; 0) $p_1=0,002$ $p_2=0,009$ $p_4=0,006$

Примечания: в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили; p_1 – по сравнению с контролем, p_2 – по сравнению с третьей опытной группой, p_3 – по сравнению с первой опытной группой, p_4 – по сравнению со второй опытной группой.

Notes: median, upper and lower quartiles are given in each case; p_1 – compared with the control, p_2 – compared with the third experimental group, p_3 – compared with the first experimental group, p_4 – compared with the second experimental group.

Таблица 3

Показатели поведенческих реакций белых мышей при применении теста Порсолта при многократном введении кофеина и диоксидина на 15-е сутки эксперимента

Table 3

Indicators of behavioral reactions of white mice using the Porsolt test with repeated administration of caffeine and dioxidine on the 15th day of the experiment

Показатели/ Indicators	Группы животных / Groups of animals			
	Контроль/ Control	Первая опытная (Кофеин 40 мг/кг)/ The first experimental (Caffeine 40 mg/kg)	Вторая опытная (Кофеин 100 мг/кг)/ Second experimental (Caffeine 100 mg/kg)	Третья опытная (Диоксидин 200 мг/кг)/ Third experimental (Dioxidine 200 mg/kg)
Активное плавание (с)/ Active swimming (s)	958 (801; 1073)	1121 (1069; 1157) $p_1=0,038$	724 (679; 787) $p_1=0,1$ $p_3=0,005$	612 (582; 959) $p_1=0,248$ $p_3=0,013$ $p_4=0,376$
Иммобильность (с)/ Immobility (s)	70 (25; 131)	16 (12; 20) $p_1=0,074$	342 (226; 399) $p_1=0,012$ $p_3=0,004$	540 (61; 551) $p_1=0,029$ $p_3=0,004$ $p_4=0,375$
Климбинг (с)/ Climbing (s)	82 (6; 291)	32 (21; 59) $p_1=0,351$	97 (78; 109) $p_1=0,830$ $p_3=0,013$	62 (32; 66) $p_1=0,416$ $p_3=0,566$ $p_4=0,029$
Груминг (кол-во)/ Grooming (qty)	12 (4; 21)	8 (5; 13) $p_1=0,829$	0 (0; 0) $p_1=0,002$ $p_3=0,003$	26 (17; 61) $p_1=0,029$ $p_3=0,004$ $p_4=0,003$
Отряхивание (кол-во)/ Shaking off (qty)	7 (2; 8)	5 (5; 6) $p_1=0,507$	0 (0; 0) $p_1=0,002$ $p_3=0,002$	10 (7; 14) $p_1=0,043$ $p_3=0,004$ $p_4=0,002$

Примечания: в каждом случае приведены медиана, верхний и нижний квартили; p_1 – по сравнению с контролем, p_3 – по сравнению с первой опытной группой, p_4 – по сравнению со второй опытной группой.

Notes: median, upper and lower quartiles are given in each case; p_1 – compared with the control, p_3 – compared with the first experimental group, p_4 – compared with the second experimental group.

Животные второй опытной группы, получавшие кофеин в дозе 100 мг/кг, на 1-е сутки эксперимента демонстрировали незначительное увеличение времени активного плавания (на 6,7 %). В то же время показатели иммобилизации и климбинга снижались недостоверно (таблица 1). При увеличении продолжительности воздействия кофеина к 8-м суткам наблюдалось достоверное снижение времени иммобилизации (на 79,4 %) (таблица 2). Изменения в значениях активного плавания и климбинга статистической значимости не имели. Однако на 15-е сутки эксперимента было отмечено значительное увеличение продолжительности времени иммобили-

зации, этот показатель превышал контрольные значения в 4 раза (таблица 3). Время активного плавания и климбинга статистически значимо не изменялось.

У третьей опытной группы (получавшей диоксидин) на 1-е и 8-е сутки эксперимента статистически значимых отличий отмечено не было (табл. 1 и 2). При дальнейшем введении диоксидина к 15-м суткам наблюдалось увеличение уровня иммобилизации, более чем в 7 раз превышающее контрольные значения. Время климбинга и активного плавания снижалось недостоверно (таблица 3).

У животных четвертой (совместное введение кофеина в дозе 40 мг/кг и диоксидина) и пятой (со-

вместное введение кофеина в дозе 100 мг/кг и диоксида) опытных групп на 1-е сутки эксперимента установлено достоверное снижение длительности иммобилизации, а также наблюдалась тенденция к снижению времени активного плавания по сравнению с контрольной группой (таблица 1). На 8-е сутки эксперимента статистически значимых отличий отмечено не было (таблица 2). В обеих группах к 15-м суткам наблюдалась 100 % смертность животных.

Результаты проведенного исследования подтверждают антидепрессантные эффекты кофеина, при этом к 15-м суткам более выраженные антидепрессивные свойства отмечены для животных, получавших кофеин в дозе 40 мг/кг, чем в дозе 100 мг/кг.

Введение животным кофеина в дозе 40 мг/кг (первая опытная группа) на 1-е сутки исследования приводило к снижению продолжительности активного плавания только на уровне тенденции, но при этом отсутствовало время иммобилизации. При более длительном воздействии к 8-м и 15-м суткам эксперимента наблюдалось увеличение времени активного плавания и снижение иммобилизации, что позволяет считать кофеин в дозе 40 мг/кг веществом с выраженной антидепрессантной активностью. Подобные изменения согласуются с ранее представленными данными, в которых указанная доза кофеина оказывала наиболее значимый эффект по сравнению с вводимыми дозами 20 мг/кг или 80 мг/кг [11].

При использовании кофеина в дозе 100 мг/кг (вторая опытная группа) отмечалась лишь незначительная степень выраженности антидепрессантной активности на 1-е сутки эксперимента – увеличивалась продолжительность активного плавания. К 8-м суткам эксперимента время активного плавания статистически значимо не отличалось от показателей контроля, однако продолжительность иммобилизации была значительно ниже. При сравнении второй опытной группы с первой наблюдалось снижение времени активного плавания и увеличение длительности иммобилизации. На 15-е сутки исследования отмечалось уменьшение времени активного плавания и увеличение времени иммобилизации по сравнению с контрольными значениями и группой, получавшей кофеин в дозе 40 мг/кг, что позволяет сказать об отсутствии у кофеина в данной

дозировке выраженного антидепрессивного эффекта при применении более 8–15 дней [19, 20].

Диоксидин, который получали животные третьей опытной группы, вызывал значительное снижение времени активного плавания и увеличение продолжительности иммобилизации по сравнению с группой контроля, первой и второй опытными группами на протяжении всех дней эксперимента. Изменение указанных значений говорит об ожидаемом отсутствии у диоксида антидепрессантной активности и проявлении обратного эффекта, вероятно, обусловленного токсическим действием, вызванным многократным внутрибрюшинным введением этого вещества [21].

Совместное введение кофеина в дозе 40 мг/кг и диоксида (четвертая опытная группа) на 1-е сутки эксперимента приводило к увеличению продолжительности активного плавания и отсутствию времени иммобилизации по сравнению с первой и третьей опытными группами. При этом у четвертой экспериментальной группы отмечалось снижение времени плавания на уровне тенденции и отсутствие иммобилизации по отношению к контролю. На 8-е сутки выявлено увеличение длительности активного плавания, а также снижение времени иммобилизации по сравнению с контрольной группой и третьей опытной только на уровне тенденции. Однако по сравнению со второй группой наблюдалось увеличение иммобилизации. Отмеченные изменения показателей, вероятно, обусловлены протекторным действием кофеина, который на протяжении 8-ми суток исследования способен снижать негативное влияние диоксида. Но при увеличении продолжительности воздействия до 15-х суток наблюдалась 100 % смертность животных этой группы.

При оценке изменений, выявленных у мышей пятой опытной группы, получавшей совместно кофеин в дозе 100 мг/кг и диоксидин, на 1-е сутки исследования отмечалось снижение иммобилизации по сравнению с контролем. Однако по отношению ко второй опытной группе был установлен рост иммобилизации. При сравнении с третьей опытной группой отмечалось увеличение длительности активного плавания на уровне тенденции и снижение иммобилизации. К 8-м суткам эксперимента было

выявлено значительное снижение времени активного плавания по сравнению со всеми исследуемыми группами. При увеличении длительности эксперимента до 15-х суток наблюдалась 100 % смертность животных, как и в четвертой группе.

Выводы

1. По результатам проведенного исследования можно утверждать, что применение кофеина в дозе 40 мг/кг оказывает антидепрессивный эффект.

2. Обнаруженные изменения в динамике показателей при использовании кофеина в дозе 100 мг/кг доказывают, что при продолжительности его введения 8–15 суток антидепрессивное влияние отсутствует, при этом был отмечен незначительный стимулирующий эффект при однократном воздействии (увеличивалось время активного плавания).

3. Диоксидин в дозе 200 мг/кг показал отсутствие антидепрессивной активности и наличие обратного эффекта (увеличение времени иммобилизации).

4. Совместное введение диоксидина и кофеина (и в дозе 40 мг/кг, и в дозе 100 мг/кг) к 15-м суткам эксперимента приводило к 100 % смертности животных опытных групп.

Библиографический список

1. Depression. World Health Organization. [дата обращения: 30.01.2020]. Доступ по ссылке: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/depression>.
2. Гарибова Т.Л., Крайнева В.А., Воронина Т.А. Поведенческие экспериментальные модели депрессии. Фармакокинетика и фармакодинамика. 2017. № 3. С. 14–19.
3. Peters J.M. Factors affecting caffeine toxicity: a review of the literature. The Journal of Clinical Pharmacology and the Journal of New Drugs. 1967. Vol. 7. № 3. P. 131–141.
4. Pham N.M., Nanri A., Kurotani K., Kuwahara K., Kume A., Sato M., et al. Green tea and coffee consumption is inversely associated with depressive symptoms in a Japanese working population. Public Health Nutrition. 2014. Vol. 17. № 3. P. 625–633. doi: 10.1017/S1368980013000360
5. Park R.J., Moon J.D. Coffee and depression in Korea: the fifth Korean National Health and nutrition examination survey. European Journal of Clinical Nutrition. 2015. Vol. 69. № 4. P. 501–504. doi: 10.1038/ejcn.2014.247
6. Проскурякова Т.В., Гришин М.Э. Кофеин и психическое здоровье // Психическое здоровье. 2016. Т. 14. № 10. С. 76–82.
7. Lucas M., O'Reilly E.J., Pan A., Mirzaei F., Willett W.S., Okereke O.I., et al. Coffee, caffeine, and risk of completed suicide: results from three prospective cohorts of American adults. The World Journal of Biological Psychiatry. 2014. Vol. 15. № 5. P. 377–386. doi: 10.3109/15622975.2013.795243
8. James J.E. Are coffee's alleged health protective effects real or artifact? The enduring disjunction between relevant experimental and observational evidence. Journal of Psychopharmacology. 2018. Vol. 32. № 8. P. 850–854. doi: 10.1177/0269881118771780
9. Башкатова В.Г., Назарова Г.А., Алексеева Е.В. Влияние внутриутробного введения кофеина на поведение крысят в тесте: приподнятый крестообразный Лабиринт. Проблемы современной науки и образования. 2016. № 40 (82). С. 15–17.
10. Маркова Е.В., Княжева М.А., Савкин И.В., Тихонова М.А., Амтиславская Т.Г. Купирование поведенческих паттернов депрессивно-подобного состояния у экспериментальных животных трансплантацией модулированных психоактивным веществом иммунных клеток. Медицинская иммунология. 2017. Т. 19. № 5. С. 48–49.
11. Арушанян Э.Б., Попов А.В. Особенности временной организации поведенческого ответа крыс на кофеин. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2005. Т. 68. № 1. С. 10–12.
12. Башкатова В.Г., Алексеева Е.В., Богданова Н.Г., Назарова Г.А. Влияние острого введения разных доз кофеина на поведенческие показатели взрослых крыс. Наркология. 2017. Т. 16. № 12. С. 9–13.
13. Калинин А.Я. Кофеин-друг или враг? Компетентность. 2014. Т. 9. № 120–121. С. 43.
14. Szopa A., Doboszewskab U., Herbertc M., Woskoc S., Wysład E., Swiqdera K., et al. Chronic treatment with caffeine and its withdrawal modify the antidepressant-like activity of selective serotonin reuptake inhibitors in the forced swim and tail suspension tests in mice. Effects on Comt, Slc6a15 and Adora1 gene expression. Toxicology and Applied Pharmacology. 2017. Vol. 337. P. 95–103. doi: 10.1016/j.taap.2017.10.020
15. Курчатова М.Н., Дурнова Н.А., Полуконова Н.В. Влияние экстрактов, содержащих биофлавоноиды, на индукцию микроядер диоксидином в эритроцитах крови беспородных белых мышей. Вестник Воронежского государственного университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2014. № 2. С. 58–65.
16. Дурнев А.Д., Кулакова А.В., Жанатаев А.К., Оганесянц Л.А. Оценка цитогенетической и мутаген-модифицирующей активности кофеина в клетках костного мозга мышей. Гигиена и санитария. 2015. Т. 94. № 3. С. 106–110.
17. Porsolt R.D., Bertin A., Blavet N., Deniel M., Jalfre M. Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. European Journal of Pharmacology. 1979. Vol. 57. № 2–3. P. 201–210.
18. Ковалева М.А., Макарова М.Н., Макаров В.Г., Горячева М.А. Применение теста «принудительное плавание» при проведении доклинических исследований. Международный вестник ветеринарии. 2015. № 4. С. 90–95.
19. Fisone G., Borgkvist A., Usiello A. Caffeine as a psychomotor stimulant: mechanism of action. Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS). 2004. Vol. 61. № 7–8. P. 857–872.
20. Башкатова В.Г. Влияние высоких нетоксичных доз кофеина на активность нитроергической системы мозга крыс. Наркология. 2013. Т. 12. № 8. С. 42–45.
21. Верная О.И., Шабатин В.П., Шабатина Т.И., Хватов Д.И., Семенов А.М., Юдина Т.П. и др. Криохимическая модификация диоксидина, его активность и токсичность. Журнал физической химии. 2017. Т. 91. № 2. С. 230–233. doi: 10.7868/S0044453717020339

References

1. Depression. *World Health Organization*. [cited 2020 Jan 30]. Available from: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/depression>
2. Garibova TL, Kraineva VA, Voronina TA. Animal models of depression. *Farmakokinetika i Farmakodinamika*. 2017;(3):14–19. (In Russ).
3. Peters JM. Factors affecting caffeine toxicity: a review of the literature. *The Journal of Clinical Pharmacology and the Journal of New Drugs*. 1967;7(3):131–141.
4. Pham NM, Nanri A, Kurotani K, Kuwahara K, Kume A, Sato M, et al. Green tea and coffee consumption is inversely associated with depressive symptoms in a Japanese working population. *Public Health Nutrition*. 2014;17(3):625–633. doi: 10.1017/S1368980013000360
5. Park RJ, Moon JD. Coffee and depression in Korea: the fifth Korean National Health and nutrition examination survey. *European Journal of Clinical Nutrition*. 2015;69(4):501–504. doi: 10.1038/ejcn.2014.247
6. Proskuryakova TV, Grishin ME. Caffeine and mental health. *Psihicheskoe zdorov'e*. 2016;14(10):76–82. (In Russ).
7. Lucas M, O'Reilly EJ, Pan A, Mirzaei F, Willett WS, Okereke OI, et al. Coffee, caffeine, and risk of completed suicide: results from three prospective cohorts of American adults. *The World Journal of Biological Psychiatry*. 2014;15(5):377–386. doi: 10.3109/15622975.2013.795243
8. James JE. Are coffee's alleged health protective effects real or artifact? The enduring disjunction between relevant experimental and observational evidence. *Journal of Psychopharmacology*. 2018;32(8):850–854. doi: 10.1177/0269881118771780
9. Bashkatova VG, Nazarova GA, Alexeeva EV. Effect of prenatal administration of caffeine on behavior of rats in the elevated plus maze test. *Problems of modern science and education*. 2016; 40(82):15–17. (In Russ).
10. Markova EV, Knyazheva MA, Savkin IV, Tikhonova MA, Amstislavskaya TG. Relief of behavioral patterns of a depressive-like state in experimental animals by transplantation of immune cells modulated by a psychoactive substance. *Medical Immunology*. 2017;19(S):48–49. (In Russ).
11. Arushanyan EB, Popov AV. Peculiarities of the temporal organization of the behavioral response to caffeine in rats. *Experimental and Clinical Pharmacology*. 2005;68(1):10–12. (In Russ).
12. Bashkatova VG, Alexeeva EV, Bogdanova NG, Nazarova GA. Effect of acute administration of caffeine in different doses on behavior of adult rats. *Narcology*. 2017;16(12):9–13. (In Russ).
13. Kalinin AY. Caffeine: friend or foe? *Kompetentnost'*. 2014;9(43):120–121. (In Russ).
14. Szopa A, Doboszewskab U, Herbetc M, Woskoa S, Wyskad E, Swiadera K, et al. Chronic treatment with caffeine and its withdrawal modify the antidepressant-like activity of selective serotonin reuptake inhibitors in the forced swim and tail suspension tests in mice. Effects on Comt, Slc6a15 and Adora1 gene expression. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2017;337:95–103. doi: 10.1016/j.taap.2017.10.020
15. Kurchatova MN, Durnova NA, Polukonova NV. Effects of extracts containing bioflavonoids for the induction of micronuclei dioxidine in blood erythrocytes unprotected white mouse. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*. 2014;(2):58–65. (In Russ).
16. Durnev AD, Kulakova AV, Zhanataev AK, Oganesyants LA. Evaluation of the cytogenetic and mutagen-modifying activity of caffeine in mouse bone marrow cells. *Hygiene and Sanitation*. 2015;94(3):106–110. (In Russ).
17. Porsolt RD, Bertin A, Blavet N, Deniel M, Jalfre M. Immobility induced by forced swimming in rats: effects of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *European Journal of Pharmacology*. 1979;57(2–3):201–210.
18. Kovaleva MA, Makarova MN, Makarov VG, Goryacheva MA. Application of «forced swimming» test for preclinical trials. *International bulletin of Veterinary Medicine*. 2015;(4):90–95. (In Russ).
19. Fisone G, Borgkvist A, Usiello A. Caffeine as a psychomotor stimulant: mechanism of action. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)*. 2004;61(7–8):857–872.
20. Bashkatova VG. The influence of high non toxic dose of caffeine on the generation of nitric oxide in brain structures of rats. *Narcology*. 2013;12(8):42–45. (In Russ).
21. Vernaya OI, Shabatin VP, Shabatina TI, Khvatov DI, Semenov AM, Yudina TP, et al. Cryochemical modification, activity, and toxicity of dioxidine. *Russian Journal of Physical Chemistry A*. 2017; 91(2):230–233. (In Russ). doi: 10.7868/S0044453717020339

Ответственный за переписку: Дурнова Наталья Анатольевна – доктор биологических наук, доцент, зав. кафедрой общей биологии, фармакогнозии и ботаники ФГБОУ ВО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России, 410012, Россия, г. Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112, E-mail: ndurnova@mail.ru

Дурнова Н.А. SPIN: 3348–2957, ORCID ID: 0000–0003–4628–9519

Каретникова А.Ю. SPIN: 1374–9994, ORCID ID: 0000–0002–8043–3142

Исаев Д.С. SPIN: 9105–1500, ORCID ID: 0000–0003–4053–0535

Кланцатая А.Р. SPIN: 8085–0152, ORCID ID: 0000–0002–5387–1606

Шереметьева А.С. SPIN: 3755–4410, ORCID ID: 0000–0002–0022–8318

Corresponding author: Durnova Natalya Anatolievna – Doctor of Biological Sciences, Assistant Professor, Head of the Department of General Biology, Pharmacognosy and Botany, Razumovsky Saratov State Medical University; 410012, Russia, Saratov, Bolshaya Kazachya, 112. E-mail: ndurnova@mail.ru

Durnova N.A. ORCID ID: 0000–0003–4628–9519

Karetnikova A. Yu. ORCID ID: 0000–0002–8043–3142

Isaev D.S. ORCID ID: 0000–0003–4053–0535

Klantsataya A.R. ORCID ID: 0000–0002–5387–1606

Sheremeteyeva A.S. ORCID ID: 0000–0002–0022–8318