

**УДК 591.5:579.222+57.084**

**DOI 10.29039/2413-1725-2025-11-1-260-272**

## **ВЛИЯНИЕ ПРОБИОТИЧЕСКОГО МИКРОБНОГО КОНСОРЦИУМА НА ПОВЕДЕНЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ КРЫС С АЛЛОКСАН- ИНДУЦИРОВАННЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

*Ярмлюк Н. С., Джелдубаева Э. Р., Ржевская В. С., Туманянц К. Н., Аединова Д. З.*

*ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского», Симферополь,  
Республика Крым, Россия  
E-mail: nat\_yarm@mail.ru*

Показано влияние пробиотического микробного консорциума (ПМК) на поведенческие реакции крыс с аллоксан-индуцированным диабетом в тесте «инфракрасный актиметр». Выявлено, что у крыс с аллоксановым диабетом наблюдается достоверное снижение всех показателей двигательной активности, наиболее выраженное на 14-е сутки. Введение ПМК способствовало частичному восстановлению поведенческих реакций, особенно на 14-е сутки, когда значения показателей приближались к уровню контрольной группы. Полученные данные подтверждают гипотезу о модулирующем и защитном влиянии ПМК на поведение животных в условиях диабетического стресса и подчеркивают его потенциальную ценность как вспомогательного средства в терапии сахарного диабета.

**Ключевые слова:** аллоксан, сахарный диабет, пробиотический микробный консорциум, двигательная активность, крысы.

### **ВВЕДЕНИЕ**

Сахарный диабет – одно из наиболее распространённых хронических заболеваний XXI века, характеризующееся не только нарушением углеводного обмена, но и системными расстройствами, включая поведенческие и когнитивные изменения [1, 2] Нарушения в эмоционально-поведенческой сфере, такие как тревожность, когнитивный дефицит, депрессия, всё чаще рассматриваются как осложнения диабета, обусловленные метаболическими сдвигами, хроническим воспалением и оксидативным стрессом, особенно со стороны центральной нервной системы [3].

В последние годы активно развивается направление, изучающее взаимосвязь между состоянием кишечной микробиоты и функционированием мозга, так называемая ось "микробиом–кишечник–мозг" [4]. Показано, что микробиота кишечника может влиять на функцию мозга через различные механизмы, такие как синтез нейротрансмиттеров, регуляция воспаления и модуляция иммунной системы [5]. Пробиотики, в особенности пробиотические микробные консорциумы (ПМК) способные модулировать состав микробиоты, рассматриваются как потенциальные

корректоры не только метаболических, но и поведенческих нарушений. Они дают анксиолитический и антидепрессивный эффекты, характеризующиеся положительными изменениями в эмоциональной, когнитивной, системной и нервной сферах [6]. Однако исследований, направленных на оценку поведенческих реакций при диабете в условиях введения пробиотиков, остаётся недостаточно.

Показано, что использование аллоксан-индуцированной модели сахарного диабета у лабораторных животных вызывает ряд физиологических изменений, включая гипергликемию и инсулиновую недостаточность [7]. Эти изменения, в свою очередь, приводят к заметным изменениям в поведении животных, которые могут быть исследованы с помощью различных этологических тестов. Некоторые исследования показывают, что диабетические крысы могут демонстрировать признаки депрессивно-подобного поведения, такие как снижение двигательной активности, уменьшение интереса к новизне и увеличение времени, проводимого в неподвижности в тесте принудительного плавания. Может наблюдаться снижение мотивации и интереса к окружающей среде [8]. Исследования в данной области направлены на уточнение роли пробиотиков в регуляции поведенческих функций при диабете и обоснование возможности их использования в комплексной терапии диабетических осложнений.

В связи с этим целью данной работы явилось изучение влияния пробиотического микробного консорциума на поведенческие реакции крыс с аллоксан-индуцированным диабетом в тесте инфракрасный актиметр.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась в Центре коллективного пользования научным оборудованием «Экспериментальная физиология и биофизика» при кафедре физиологии человека и животных и биофизики в рамках программы исследований № АААА-А21-121011990099-6 «Физиологические механизмы биологического действия факторов разной природы и интенсивности» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского».

Эксперименты проводились на белых половозрелых крысах-самцах линии *Wistar*, которые были специально выведены для лабораторных исследований. Согласно государственному стандарту РФ «ГОСТ 33216-2014, Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными, Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами, Правила оборудования помещений и организации процедур» – испытуемые животные содержались в адекватных условиях, в соответствии с тезисами вышеприведённого государственного норматива. В клетках присутствовал свободный доступ к воде и гранулированному комбикорму со сбалансированным содержанием белкового, жирового и углеводного баланса компонентов. Поение и кормление проводилось подконтрольно, согласно внутреннему распорядку работы вивария.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены. Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим

стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, принципам Базельской декларации и рекомендациям этического комитета по биоэтике ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет им. В. И. Вернадского» (протокол № 5 от 2022 г.).

Общая выборка составила 30 здоровых крыс, массой 280–330 г, разделенных на 3 экспериментальные группы по 10 особей в каждой. Животные первой группы (К) содержались в стандартных условиях вивария и служили биологическим контролем. Крысам второй (Ал) и третьей (Ал+Пб) группы был смоделирован сахарный диабет путем внутрибрюшинного введения аллоксана (мезоксалиломочевина,  $C_4O_4H_2N_2 \times H_2O$ , компания «Диаэм», Россия) в дозировке по 100 мг/кг в течение трех дней [9]. Аллоксан является относительно недорогим и легкодоступным химическим соединением. Диабет развивается в течение нескольких дней после его введения, что позволяет быстро проводить исследования [7]. Для определения возникновения диабета в ходе эксперимента проводился контроль концентрации глюкозы в крови, взятой из хвостового надреза крыс, при помощи глюкометра «iCheck». На 10-й день животным третьей группы (Ал+Пб) в течение последующих 21 суток интрагастрально по 3 мл вводился 1 % раствор ПМК. Животным первой (К) и второй (Ал) групп вводили эквивалентный объем питьевой воды.

Синтез тестируемого ПМК проводился на кафедре ботаники и физиологии растений и биотехнологий ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» под руководством Ржевской В. С. ПМК включал штаммы пробиотических микроорганизмов: *Lactobacillus parabuchneri* ВКМ В-3553D, *Lactobacillus plantarum* ВКМ В-3552D, *Lactobacillus acidophilus* ВКМ В-3563D, *Enterococcus faecium* ВКМ В-3551D, *Brettanomyces bruxellensis* ВКМ Y-3064D. Все штаммы микроорганизмов депонированы во Всероссийской коллекции микроорганизмов. Микробный консорциум получали путем совместного культивирования молочнокислых бактерий, энтерококка и дрожжей в жидкой питательной среде MRS в биореакторе Minifors 2 (Minifors 2 НТ, Швейцария) при температуре 32 °С и 50 об/мин в течение 3-х суток. Учет численности микроорганизмов в консорциуме проводили методом предельных разведений. Биологическая концентрация бактерий микробного консорциума составила  $1,3 \cdot 10^9$  КОЕ.

Двигательная активность крыс исследована в системе «Инфракрасный актиметр» (IR Actimeter, Pan Lab Harvard Apparatus Испания), представленной специализированной рабочей камерой размером 45 x 45 см с прозрачными стенками, сделанными из полипропилена высотой 20 см, с двумя инфракрасными рамками, которые выполняют роль датчиков, реагирующих на движения. Для управления рабочей станции и сбора данных использовано программное обеспечение Actitrack 2.0 (Pan Lab Harvard Apparatus, Испания). Время проведения теста составило 3 минуты. Тестирование проводили на 1, 7, 14 и 21 сутки введения ПМК.

Статистическую обработку и графическое представление экспериментальных данных проводили с использованием программ GraphPad Prism 8 (версия 8.4.3 (686) (GraphPad Software, США) и Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, США). Проверку распределения данных на нормальность осуществляли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Поскольку распределение данных в подавляющем большинстве

случаев не соответствовало нормальному, значимость различий между группами оценивали с помощью непараметрического критерия Краскела-Уоллиса. Множественные апостериорные сравнения значений показателей между группами проводили с помощью критерия Данна. В описании сравнения значений показателей в разных группах животных использовались %, которые рассчитывались по значениям медианы показателей соответствующих групп. Критический уровень значимости статистических гипотез (p) в данном исследовании принимали равным 0,05.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов исследования во второй группе крыс (Ал) с аллоксан-индуцированным диабетом показал, что за весь период эксперимента общая активность животных достоверно снижается относительно контрольных значений. На первые сутки наблюдения общая активность снижается на 220,5 у.е. ( $p < 0,05$ ), на 7-е – на 231 у.е. ( $p < 0,05$ ), на 14-е сутки – 270 у.е. ( $p < 0,01$ ), на 21-е – 173 у.е. ( $p < 0,05$ ) по сравнению с показателями крыс первой группы (рис. 1).

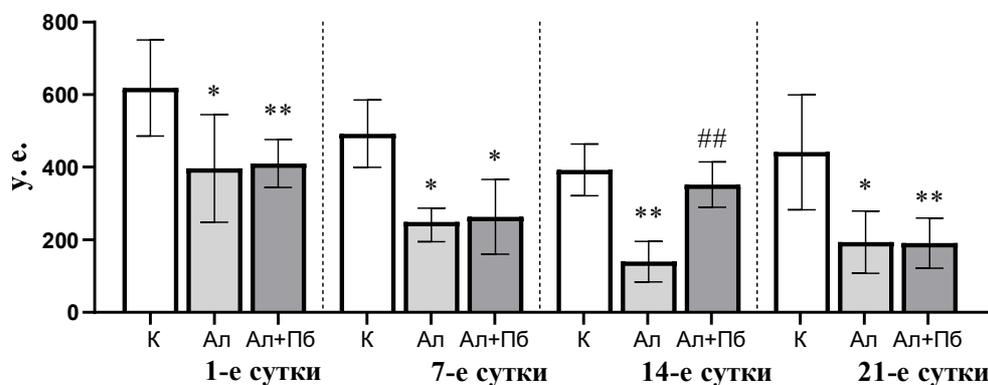


Рис. 1. Общая активность крыс в контроле (К), с аллоксан-индуцированным диабетом (Ал) и при дополнительном введении пробиотического микробного консорциума (Ал+Пб).

Примечание: \* – достоверность различий по критерию Данна относительно контрольной группы (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ )

# – достоверность различий по критерию Данна относительно группы Аллоксан (## –  $p < 0,01$ )

В третьей группе крыс (Ал+Пб), которой дополнительно вводили ПМК, на 1-е сутки эксперимента общая активность снижается относительно контроля на 265 у.е. ( $p < 0,01$ ), а на 7-е сутки – на 227,5 у.е. ( $p < 0,05$ ). На 14-е сутки приёма ПМК общая активность крыс увеличивается относительно второй группы (Ал) на 240 у.е. ( $p < 0,01$ ) и приближается к контрольным значениям. Однако на 21-й день наблюдения общая активность животных группы Ал+Пб вновь снижается на 206 у.е. ( $p < 0,01$ ) относительно данных контрольной группы и приближается к

значениям группы Ал. Следовательно, наиболее выраженные изменения наблюдались на 14-е сутки исследования (рис. 1).

Таким образом, снижение общей активности у крыс с аллоксан-индуцированным диабетом в инфракрасном актиметре обусловлено несколькими взаимосвязанными факторами, которые являются следствием метаболических и неврологических нарушений, вызванных диабетом. Известно, что при сахарном диабете нарушается утилизация глюкозы клетками, что приводит к энергодефициту [10]. Клетки «голодают», несмотря на высокий уровень глюкозы в крови, что и вызывает слабость, утомляемость и, как следствие, снижение активности животных. Кроме того, хроническая гипергликемия может вызывать повреждение периферических нервов, что приводит к болевым ощущениям, онемению и слабости в конечностях, что и влияет на способность крыс активно двигаться.

Анализируя общую пройденную дистанцию в экспериментальных группах, также выявлено ее снижение. В группе Ал на первые и 21-е сутки наблюдения отмечена тенденция к снижению изучаемого показателя, тогда как на 7-е сутки общая дистанция снижается на 551,75 у.е. ( $p < 0,01$ ), а на 14-е сутки – на 513,95 у.е. ( $p < 0,01$ ) относительно данных контрольной группы (рис. 2).

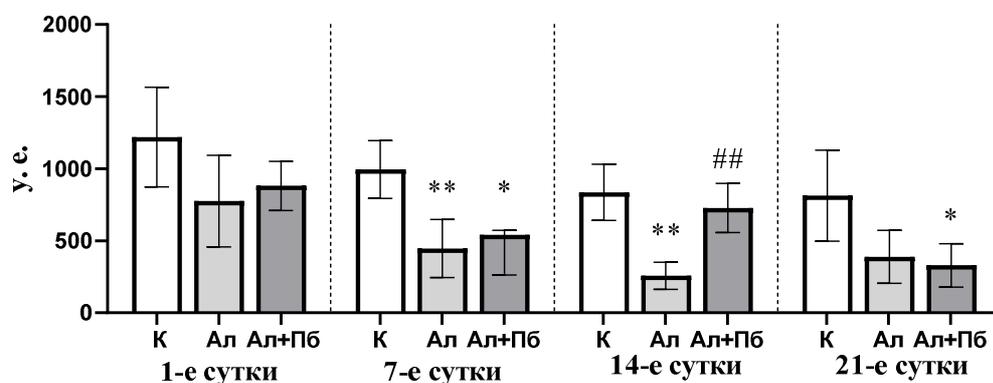


Рис. 2. Общая пройденная дистанция крыс в контроле (К), с аллоксан-индуцированным диабетом (Ал) и при дополнительном введении пробиотического микробного консорциума (Ал+Пб).

Примечание: \* – достоверность различий по критерию Данна относительно контрольной группы (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ )

# – достоверность различий по критерию Данна относительно группы Аллоксан (## –  $p < 0,01$ )

В третьей группе животных (Ал+Пб) на первые сутки эксперимента достоверных изменений не обнаружено, тогда как на 7-е и 21-е сутки общая пройденная дистанция уменьшилась на 449,35 у.е. ( $p < 0,05$ ) и 399,70 у.е. ( $p < 0,05$ ) соответственно относительно контроля. Кроме того при дополнительном введении ПМК на 14-е сутки наблюдения у животных отмечено увеличение общей

пройденной дистанции на 493,90 у.е. ( $p < 0,01$ ) относительно данных группы Ал, что в свою очередь приближается к контрольным значениям (рис. 2).

Снижение общей пройденной дистанции в инфракрасном актиметре у крыс с аллоксановым диабетом является следствием тех же основных причин, которые вызывают и снижение общей активности. Однако акцент смещается на то, как эти причины влияют именно на способность животного перемещаться в пространстве. В связи с тем, что диабет препятствует эффективному использованию глюкозы, наступает быстрое утомление, что и ограничивает способность крысы проходить большие расстояния. Кроме того, диабетическая нейропатия может вызывать онемение, покалывание, боль и слабость в лапах, что вызывает дискомфорт при перемещениях, тем самым сокращая пройденное расстояние.

Характеризуя среднюю скорость крыс в инфракрасном актиметре отмечено, что на первые и 21-е сутки наблюдения в группе Ал выявлена лишь тенденция к уменьшению скорости относительно контрольных значений. Тогда как на 7-й и 14-й день эксперимента средняя скорость животных с аллоксановым диабетом снижается относительно животных контрольной группы на 3,05 см/с ( $p < 0,01$ ) и 3,15 см/с ( $p < 0,01$ ) соответственно (рис. 3).

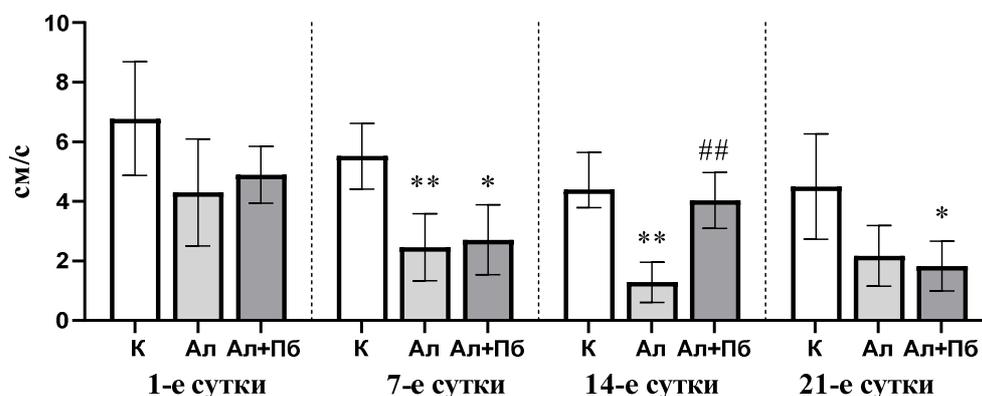


Рис. 3. Средняя скорость крыс в контроле (К), с аллоксан-индуцированным диабетом (Ал) и при дополнительном введении пробиотического микробного консорциума (Ал+Пб).

Примечание: \* – достоверность различий по критерию Данна относительно контрольной группы (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ )

# – достоверность различий по критерию Данна относительно группы Аллоксан (## –  $p < 0,01$ )

В третьей группе животных на первые сутки эксперимента достоверных изменений средней скорости движения по сравнению с контролем не обнаружено. Тогда как на 7-й и 21-й день наблюдения выявлено снижение изучаемого показателя относительно контрольных значений на 2,5 см/с ( $p < 0,05$ ) и 2,2 см/с ( $p < 0,05$ ) соответственно. На 14-е сутки эксперимента отмечено увеличение средней скорости крыс группы Ал+Пб, значения которой приближаются к контрольным данным, но

при этом достоверно увеличиваются относительно изучаемого показателя в группе Ал на 3 см/с ( $p < 0,01$ ) (рис. 3).

Таким образом, снижение средней скорости движения крыс с аллоксановым диабетом является логическим следствием комплексного воздействия диабета на организм.

Проведя анализ времени покоя крыс от общей длительности наблюдения выявлено, что в обеих экспериментальных группах крысы значительно больше находились в покое, нежели в активном движении по сравнению с контрольной группой. Так, в группе Ал на первые сутки отмечено увеличение времени покоя на 15,6 % ( $p < 0,05$ ), на 7-е сутки – на 27,15 % ( $p < 0,05$ ), на 14-е – на 32,90 % ( $p < 0,01$ ) и на 21-й день – на 15,9 % ( $p < 0,05$ ) (рис. 4).

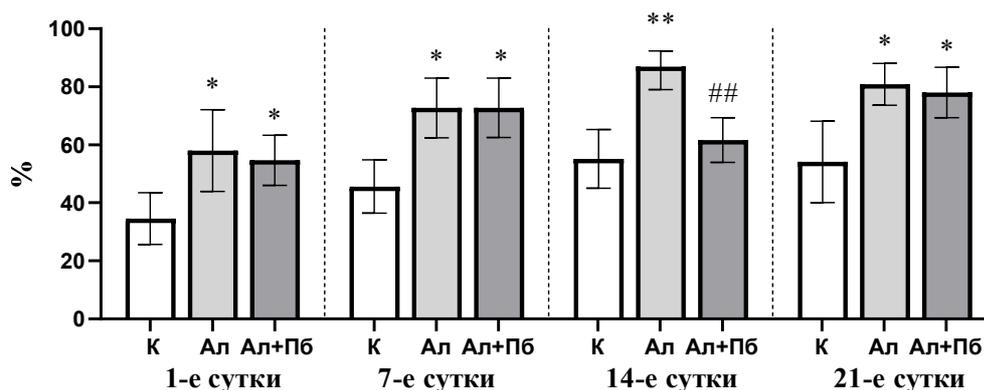


Рис. 4. Время покоя крыс от общей длительности наблюдения крыс в контроле (К), с аллоксан-индуцированным диабетом (Ал) и при дополнительном введении пробиотического микробного консорциума (Ал+Пб).

Примечание: \* – достоверность различий по критерию Данна относительно контрольной группы (\* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ );

# – достоверность различий по критерию Данна относительно группы Аллоксан (## –  $p < 0,01$ )

Тогда как в группе Ал+Пб на первый, седьмой и 21-й день наблюдения отмечено увеличение времени проведенного животным в покое на 17,6 % ( $p < 0,05$ ), 27,8 % ( $p < 0,05$ ) и 17 % ( $p < 0,05$ ) относительно контрольных значений. Однако на 14-е сутки исследования время, проведенное крысами в покое, приближается к контрольным значениям, но в то же время и достоверно снижается относительно изучаемого показателя в группе Ал на 26,55 % ( $p < 0,01$ ) (рис. 4).

Результаты исследования демонстрируют выраженное негативное влияние аллоксан-индуцированного сахарного диабета на поведенческую активность крыс, что проявляется в снижении общей активности, сокращении пройденной дистанции, снижении средней скорости движения и увеличении времени покоя. Эти изменения указывают на развитие общей гиподинамии, связанной с комплексом метаболических и неврологических нарушений, типичных для диабетического

состояния. При этом устойчивое и статистически достоверное снижение всех ключевых поведенческих показателей особенно выражено на 14-е сутки наблюдения, когда зафиксировано наибольшее падение как общей активности (на 270 у.е.), так и пройденной дистанции (на 513,95 у.е.) и средней скорости (на 3,15 см/с). Это может указывать на пик деструктивных метаболических нарушений, связанных с длительным дефицитом энергии и нарастающим нейровоспалением. Диабетическая нейропатия, гипергликемия и оксидативный стресс, усиливаются на этом этапе, что отражается на поведении животных.

В группе Ал+Пб, где крысам вводился ПМК на фоне аллоксанного диабета на 14-е сутки, наоборот, отмечается частичное восстановление поведенческих реакций: общая активность, пройденная дистанция и средняя скорость приближаются к значениям контрольной группы и значимо превосходят аналогичные показатели группы Ал. Это может свидетельствовать о положительном действии ПМК на метаболическое состояние животных, за счёт нормализации микробиоты кишечника и снижения воспаления на уровне оси "микробиом-кишечник-мозг". Известно, что пробиотики способны уменьшать уровень системного воспаления, окислительного стресса и повышать чувствительность тканей к инсулину. На фоне аллоксанового диабета введение ПМК может способствовать восстановлению энергетического обмена и снижению нейротоксического воздействия хронической гипергликемии, что, в свою очередь, выражается в повышении двигательной активности животных. Однако, на 21-е сутки эксперимента наблюдается вторичное снижение всех поведенческих параметров, хотя они не достигают значений, зафиксированных у животных группы Ал. Возможной причиной может быть истощение компенсаторных механизмов.

Таким образом, введение ПМК оказывает модулирующее и частично восстанавливающее влияние на поведенческие реакции крыс с аллоксан-индуцированным диабетом, способствуя снижению степени двигательной депрессии, характерной для диабетического состояния, и может рассматриваться как перспективное направление в адъювантной терапии сахарного диабета, направленное на коррекцию поведенческих расстройств.

Результаты проведенных исследований согласуются с литературными данными. Так, А. В. Корнеевой с соавторами показано, что на 3-и сутки эксперимента имелась тенденция к активации поведенческих реакций, а начиная с 7-х суток их снижение. Животные заторможены, у половины их них наблюдалась тахикардия. К 30-му дню изменения сохранялись [11]. Многие авторы находятся в поиске веществ, которые облегчают течение заболевания СД. Мирошниченко И. Ю. продемонстрировано, что реамберин и альфа-липовая кислота уменьшают выраженность гипергликемии и нормализуют этологический статус мышей и крыс с аллоксановым диабетом. Реамберин снижает выраженность гипергликемии и существенно корригирует нарушения мотивированного поведения и условно-рефлекторного обучения лишь при краткосрочном (1- и 7-дневном) применении относительно низких доз. Более продолжительное (14-дневное) применение реамберина сопровождается развитием толерантности в отношении его сахароснижающего и психотропного эффектов с одновременным усугублением дислипидемических расстройств при аллоксановом

диабете. Показано, что альфа-липоевая кислота, в отличие от реамберина обладающая антигипоксическим и противовоспалительным действием, характеризуется кумулятивным развитием сахароснижающего, гиполипидемического, тимоаналептического, анксиолитического и ноотропного эффектов при аллоксановом диабете. Выраженность этих эффектов альфа-липоевой кислоты достигает максимума при 14-дневном курсовом применении данного лекарственного средства [12]. Волчегорский с соавт. установил, что 7-дневное применение производных 3-оксипиридина и янтарной кислоты (эмок-сипина, реамберина и мексидола) нормализует поведение больных животных в "открытом поле" и существенно повышает качество формирования условного рефлекса активного избегания. Производные 3-оксипиридина и янтарной кислоты не уступают а-липоевой кислоте по эффективности экспериментальной терапии расстройств поведения и условнорефлекторного обучения при аллоксановом диабете [13].

В свою очередь микробиота кишечника вносит существенный вклад в регуляцию обмена посредством различных механизмов. Возникшие дисбиотические изменения могут негативно повлиять на обменные процессы и быть фактором риска развития СД. Выявление новых патогенетических путей может быть полезным при нахождении точек приложения медикаментозной терапии, что будет способствовать улучшению результатов лечения СД [14].

В связи с этим можно сказать, что пробиотики оказывают позитивное влияние на двигательную активность крыс с СД, улучшая энергетический метаболизм, снижая нейровоспаление, модулируя ось "микробиом-кишечник-мозг" и улучшая функцию мышц. Однако эффект небольшой и может зависеть от многих факторов. Поэтому необходимы дальнейшие исследования для определения оптимальных штаммов, дозировок и продолжительности приема пробиотиков для достижения максимального эффекта.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Изменения поведения у крыс с аллоксан-индуцированным диабетом являются многообразными и отражают сложные взаимодействия между физиологическими изменениями, происходящими в организме, и нервной системой. Пробиотический микробный консорциум оказывает модулирующее и частично восстанавливающее влияние на поведенческие реакции крыс с аллоксан-индуцированным диабетом. Его введение способствует снижению степени двигательной депрессии, характерной для диабетического состояния, и может рассматриваться как перспективное направление в дополнительной терапии сахарного диабета, направленное на коррекцию поведенческих расстройств.

*Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Экспериментальная физиология и биофизика» в рамках инициативной темы № АААА-А21-121011990099-6 «Физиологические механизмы биологического действия факторов разной природы и интенсивности» ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского».*

## Список литературы

1. Дедов И. И. Сахарный диабет / И. И. Дедов, М. В. Шестакова, А. Ю. Майоров, М. Ш. Шамхалова // Сахарный диабет. – 2020. – Т. 23. – С. 42–114. doi: 10.14341/DM12505
2. Лунева И. Е. Когнитивные нарушения у больных сахарным диабетом. / Лунева И. Е., Супонева Н. А. // Эффективная фармакотерапия. – 2022. – 18 (10). – С. 38–44. DOI 10.33978/2307-3586-2022-18-10-38-44.
3. Юсупова Д. Г. Особенности клинической диагностики эмоциональных и когнитивных нарушений у пациентов с сахарным диабетом. / Юсупова Д. Г., Супонева Н. А. // Эффективная фармакотерапия. – 2023. – 19 (3). – С. 36–40. DOI 10.33978/2307-3586-2023-19-3-36-40
4. Bourassa M. W. Neuroepigenetics and the gut microbiome: Can a high fiber diet improve brain health? / M. W. Bourassa, I. Alim, S. J. Bultman [et al.] // Butyrate Neurosci. Lett. – 2016. – V. 625. – P. 56–63.
5. Mingxue Gao. Gut microbiota composition in depressive disorder: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression / Mingxue Gao, Jizhi Wang, Penghong Liu, Hongwei Tu, Ruiyu Zhang, Yanyan Zhang, Ning Sun, Kerang Zhan // Transl Psychiatry – 2023 – 13(1) – P. 379. doi: 10.1038/s41398-023-02670-5.
6. Ивашкин В. Т. Психобиотические эффекты пробиотиков и пребиотиков. / В. Т. Ивашкин, К. В. Ивашкин // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2018. – № 28 (1) – С. 4–12. doi: 10.22416/1382-4376-2018-28-1-4-12).
7. Пальчикова Н. А. Гормонально-биохимические особенности аллоксановой и стрептозотоциновой моделей экспериментального диабета. / Пальчикова Н. А., Кузнецова Н. В., Кузьминова О. И., Селятицкая В. Г. // Бюллетень СО РАМН. – 2013. – Том 33, № 6. – С. 18–24.
8. Carlos Alberto Yasin Wayhs. Diabetic encephalopathy-related depression: experimental evidence that insulin and clonazepam restore antioxidant status in rat brain / Carlos Alberto Yasin Wayhs, Caroline Paula Mescka, Gilian Guerreiro, Tarsila Barros Moraes, Carlos Eduardo Diaz Jacques, Andrea Pereira Rosa, Marcelo Kneib Ferri, Maurício Schüler Nin, Carlos Severo Dutra-Filho, Helena Maria Tannhauser Barros, Carmen Regla Vargas // Cell Biochem Funct. – 2014. – 32(8). – P. 711–9. doi: 10.1002/cbf.3076.
9. Данилова И. Г. Способ моделирования аллоксанового диабета / И. Г. Данилова, И. Ф. Гетте: Патент на изобретение № 2534411; заявл. 27.11.2014; опубл. 27.11.2014. – Бюл. № 33.
10. Saltiel A. R. Insulin signaling in health and disease / Saltiel A. R. // J Clin Invest – 2021. – 131(1). – e142241. doi: 10.1172/JCI142241.
11. Корнеева А. В. Изменение поведенческих реакций у крыс с сахарным диабетом на фоне ишемии мозга / А. В. Корнеева, Г. И. Горохова, А. А. Фудашкин, В. А. Лемешенко, Е. Г. Филиппенко // Ежемесячный научно-практический медицинский журнал. – 2011. – № 3. – С. 14–16.
12. Мирошниченко И. Ю. Влияние реамберина и альфа-липоевой кислоты на расстройства поведения и метаболизма при экспериментальном сахарном диабете : диссертация канд.мед.наук. : 14.03.06 / Мирошниченко И. Ю. – Челябинск, 2010 – 145 с.
13. Волчегорский И. А. Антиоксиданты при экспериментальном сахарном диабете. / Волчегорский И. А., Рассохина Л. М., Мирошниченко И. Ю. // Проблемы Эндокринологии. – 2008. – 54(5). – С. 43–49. <https://doi.org/10.14341/probl200854543-50>
14. Червинец В. М. Влияние кишечной микробиоты на развитие сахарного диабета. / Червинец В. М., Червинец Ю. В., Ганзя Д. В., Беляев В. С., Зайцева В. С. // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2023. – 220(12). – С. 77–85. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-220-12-77-85

**EFFECT OF PROBIOTIC MICROBIAL CONSORTIUM ON BEHAVIORAL REACTIONS OF RATS WITH ALLOXAN-INDUCED DIABETES MELLITUS**

*Yarmolyuk N. S., Dzheldubaeva E. R., Rzhevskaya V. S., Tumanyants K. N., Aedinova D. Z.*

*V. I. Vernadsky Crimean Federal University, Simferopol, Russia*

*E-mail: nat\_yarm@mail.ru*

In recent years, a direction studying the relationship between the state of intestinal microbiota and brain functioning, the so-called “microbiome-gut-brain” axis, has been actively developing. It has been shown that the gut microbiota can influence brain function through various mechanisms such as synthesis of neurotransmitters, regulation of inflammation and modulation of the immune system. Probiotics, especially probiotic microbial consortia (PMCs) capable of modulating the composition of the microbiota, are considered as potential correctors of not only metabolic but also behavioral disorders. They produce anxiolytic and antidepressant effects characterized by positive changes in emotional, cognitive, systemic and nervous spheres. However, studies aimed at evaluating behavioral responses in diabetes under conditions of probiotic administration remain insufficient.

Therefore, the aim of this work was to study the effect of probiotic microbial consortium on behavioral responses of alloxan-induced diabetic rats in the infrared actimeter test.

The total sample consisted of 30 healthy rats, weighing 280–330 g, divided into 3 experimental groups of 10 animals each. The animals of the first group (K) were kept in standard vivarium conditions and served as biological control. The rats of the second (Al) and third (Al+Pb) groups were modeled diabetes mellitus by intraperitoneal injection of alloxan (mesoxalylurea,  $C_4O_4H_2N_2 \times H_2O$ , Diaem Company, Russia) at a dosage of 100 mg/kg for three days. Alloxan is a relatively inexpensive and readily available chemical compound. Diabetes develops within a few days after its administration, which allows for rapid research. To determine the occurrence of diabetes during the experiment, the concentration of glucose in blood taken from the tail incision of rats was monitored using an “iCheck” glucometer. On the 10th day, the animals of the third group (Al+Pb) were intragastrically administered 1% PMC solution by 3 ml for the next 21 days. Animals of the first (K) and second (Al) groups were administered an equivalent volume of drinking water.

The results of the study demonstrate a pronounced negative effect of alloxan-induced diabetes mellitus on the behavioral activity of rats, which is manifested by a decrease in total activity, a reduction in the distance covered, a decrease in the average speed of movement and an increase in resting time. These changes indicate the development of general hypodynamia associated with a complex of metabolic and neurological disorders typical of the diabetic state. At the same time, a steady and statistically significant decrease in all key behavioral indices is especially pronounced on the 14th day of observation, when the greatest drop in both total activity (by 270 units), as well as in the distance traveled (by 513.95 units) and average speed (by 3.15 cm/s) was recorded. This may indicate a peak of destructive metabolic disturbances associated with

prolonged energy deficit and increasing neuroinflammation. Diabetic neuropathy, hyperglycemia and oxidative stress, increase at this stage, which is reflected in the behavior of the animals.

In the AI+Pb group, where rats were administered PMC against alloxan diabetes on the background of 14 days on the contrary, a partial recovery of behavioral reactions was observed: total activity, distance covered and average speed approached the values of the control group and significantly exceeded the similar parameters of the AI group. This may indicate a positive effect of PMC on the metabolic state of animals due to the normalization of intestinal microbiota and reduction of inflammation at the level of the axis “microbiome-intestine-brain”. It is known that probiotics can reduce the level of systemic inflammation, oxidative stress and increase tissue sensitivity to insulin. Against the background of alloxan diabetes, administration of PMC can contribute to the restoration of energy metabolism and reduce the neurotoxic effects of chronic hyperglycemia, which, in turn, is expressed in the increase in motor activity of animals. However, on the 21st day of the experiment, a secondary decrease in all behavioral parameters is observed, although they do not reach the values recorded in animals of the AI group. The possible reason may be the depletion of compensatory mechanisms.

Thus, administration of PMC has a modulating and partially restorative effect on behavioral responses of alloxan-induced diabetic rats, contributing to the reduction of the degree of motor depression characteristic of the diabetic state, and can be considered as a promising direction in adjuvant therapy of diabetes mellitus aimed at the correction of behavioral disorders.

**Keywords:** alloxan, diabetes mellitus, probiotic microbial consortium, motor activity, rats.

#### References

1. Dedov I. I., Shestakova M.V., Mayorov A.Yu., Shamkhalova M. Sh. Diabetes mellitus, *Diabetes Mellitus*, **23**, 42 (2020). doi: 10.14341/DM12505.
2. Luneva I. E., Suponeva N.A. Cognitive disorders in patients with diabetes mellitus, *Efficient pharmacotherapy*, **18** (10), 38 (2022). DOI 10.33978/2307-3586-2022-18-10-38-44.
3. Yusupova D. G., Suponeva N. A. Features of clinical diagnostics of emotional and cognitive disorders in patients with diabetes mellitus, *Effective Pharmacotherapy*, **19** (3), 36 (2023). DOI 10.33978/2307-3586-2023-19-3-36-40
4. Bourassa M. W., Alim I., Bultman S. J. [et al.] Neuroepigenetics and the gut microbiome: Can a high fiber diet improve brain health? *Butyrate Neurosci. Lett.*, **625**, 56 (2016).
5. Mingxue Gao, Jizhi Wang, Penghong Liu, Hongwei Tu, Ruiyu Zhang, Yanyan Zhang, Ning Sun, Kerang Zhan Gut microbiota composition in depressive disorder: a systematic review, meta-analysis, and meta-regression, *Transl Psychiatry*, **13**(1), 379 (2023). doi: 10.1038/s41398-023-02670-5.
6. Ivashkin V. T., Ivashkin K. V. Psychobiotic effects of probiotics and prebiotics, *Ros. zhurn. gastroenterol., gepatol., koloproktol*, **28** (1), 4 (2018). doi: 10.22416/1382-4376-2018-28-1-4-12.
7. Palchikova N. A., Kuznetsova N. V., Kuzminova O. I., Selyatitskaya V. G. Hormonal and biochemical features of alloxan and streptozotocin models of experimental diabetes, *Bulletin of SB RAMS*, **33**, 6, 18 (2013).
8. Carlos Alberto Yasin Wayhs, Caroline Paula Mescka, Gilian Guerreiro, Tarsila Barros Moraes, Carlos Eduardo Diaz Jacques, Andrea Pereira Rosa, Marcelo Kneib Ferri, Maurício Schüler Nin, Carlos Severo Dutra-Filho, Helena Maria Tannhauser Barros, Carmen Regla Vargas. Diabetic encephalopathy-related depression: experimental evidence that insulin and clonazepam restore antioxidant status in rat brain, *Cell Biochem Funct.*, **32**(8), 711 (2014). doi: 10.1002/cbf.3076.

9. Danilova I. G., Gette I. F. *Method of modeling alloxan diabetes*, Patent for invention No. 2534411; applied for. 27.11.2014; publ. 27.11.2014., Bulletin No. 33.
10. Saltiel A. R. Insulin signaling in health and disease, *J Clin Invest.*, **131(1)**, e142241. (2021). doi: 10.1172/JCI142241.
11. Korneeva A. V., Gorokhova G. I., Fudashkin A. A., Lemeshenko V. A., Filipchenko E. G. Changes in behavioral responses in rats with diabetes mellitus against the background of brain ischemia, *Monthly Scientific and Practical Medical Journal*, **3**, 14 (2011).
12. Miroshnichenko I. Yu. Effect of reamberin and alpha-lipoic acid on behavioral and metabolic disorders in experimental diabetes mellitus : thesis Cand.med.sci : 14.03.06, 145 p (Chelyabinsk, 2010).
13. Volchegorsky I. A., Rassokhina L. M., Miroshnichenko I. Yu. Antioxidants in experimental diabetes mellitus. *Problems of Endocrinology*, **54(5)**, 43 (2008). (In Russ.) <https://doi.org/10.14341/probl200854543-50>
14. Chervinets V. M., Chervinets Y. V., Ganzya D. V., Belyaev V. S., Zaitseva V. S. Influence of intestinal microbiota on the development of diabetes mellitus, *Experimental and clinical gastroenterology*, **220(12)**, 77 (2023). DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-220-12-77-85