

**Е.В. Кравченко¹, А.А. Пилюцкая², О.Н. Саванец¹, Л.М. Ольгомец¹, Н.А. Бизунок²,
Б.В. Дубовик², Р.Д. Зильберман¹**

**ДИПЕПТИД PRO-GLY ОБЛЕГЧАЕТ ПРОЦЕСС ВЫРАБОТКИ
ИНСТРУМЕНТАЛЬНОГО ОБОРОНИТЕЛЬНОГО НАВЫКА У КРЫС SHR**

Кафедра фармакологии

¹ ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси», 220141, г. Минск

² Белорусский медицинский университет, г. Минск

**E.V. Kravchenko¹, A.A. Piliutskaya², O.N. Savanets¹, L.M. Olhomets¹, N.A. Bizunok²,
B.V. Dubovik², R.D. Zilberman¹**

**THE PRO-GLY DIPEPTIDE FACILITATES THE PRODUCTION PROCESS
INSTRUMENTAL DEFENSIVE SKILL IN SHR RATS**

Department of Pharmacology

¹ The SSI "The Institute of Bioorganic Chemistry, The National Academy of Sciences of
Belarus", Minsk

² Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Изучено влияние дипептида Pro-Gly на процесс выработки инструментального оборонительного навыка у инбредных крыс SHR и аутбредных Wistar. Установлено, что указанное соединение облегчало оперантное обучение у крыс SHR в первые 2 суток выработки условнорефлекторного оборонительного рефлекса нажатия на педаль и не оказывало существенного влияния на выработку и воспроизведение условного рефлекса у особей Wistar.

Ключевые слова: дипептид, крысы, Wistar, SHR.

Resume. The effect of the Pro-Gly peptide on the process of developing an instrumental defensive skill in inbred SHR rats and outbred Wistar rats was studied. It was found that this compound facilitated operant learning in SHR rats during the first 2 days of the development of the conditioned reflex of pressing the pedal and did not have a significant effect on the development and reproduction of the conditioned reflex in Wistar individuals.

Keywords: dipeptide, rats, Wistar, SHR.

Актуальность. К числу актуальных вопросов современной медицины относятся диагностика, профилактика и терапия когнитивных нарушений (КН) [4]. Эффективная профилактика позволяет редуцировать социально-экономическое бремя для общества, облегчить нагрузку на лиц, осуществляющих уход за пациентами с КН, повысить продолжительность жизни и улучшить ее качество у лиц с когнитивными расстройствами. В последние годы получены убедительные доказательства того, что первичная профилактика развития КР у пациентов из группы риска должна включать терапию артериальной гипертензии (АГ; уровень убедительности рекомендаций – А; уровень достоверности доказательств – 1) [3,4].

С целью экспериментального изучения потенциальных лекарственных средств для терапии КН широко используются спонтанно гипертензивные крысы SHR – лабораторные животные с генетически обусловленной патологией [1,5], которые представляют собой экспериментальную модель АГ и церебральных сосудистых нарушений [5]. У нормотензивных при рождении крыс SHR уже в первые 2–4 месяца жизни развивается гипертензия, которая становится устойчивой при достижении ими

возраста 6 месяцев [5]. В настоящее время SHR широко используются для оценки причин нарушений мозгового кровообращения и разработки способов его лечения [1, 5]. Кроме того, особи SHR являются признанной экспериментальной моделью, включающей импульсивность и гиперактивность [2].

Ранее нами был выявлен высокоактивный дипептид Pro-Gly, структурно родственной гормону, характеризующийся способностью облегчать процессы неассоциативного обучения, модулировать (зоо)социальное поведение и проявлять регуляторные эффекты в отношении тревожности. Вместе с тем, возможное ноотропное влияние Pro-Gly на процессы ассоциативного обучения, в частности, на оперантное поведение, не изучено.

Цель: оценка влияния соединения Pro-Gly на процесс выработки инструментального оборонительного навыка у лабораторных грызунов –инбредных крыс SHR и аутбредных крыс Wistar.

Задачи:

1. Изучить влияние соединения Pro-Gly на процесс выработки инструментального оборонительного навыка у инбредных крыс SHR;
2. Оценить эффективность соединения Pro-Gly в отношении процесса выработки условного рефлекса нажатия на педаль у аутбредных крыс Wistar.

Материалы и методы. Оценивали эффективность оперантной деятельности крыс, сопряженной с выработкой условного рефлекса (УР) нажатия на рычаг в режиме FR1 в оперантных камерах с 2 рычагами. Эксперименты проводили с использованием аппаратного комплекса «The Lafayette Instrument Modular Test Chamber», «Animal Behaviour Environment Test System», «Sound Attenuation Chamber» (фирма «The Lafayette Instrument», США) по ранее описанной методике [5]. Аверсивная стимуляция (безусловный стимул) обеспечивалась электрокожным раздражением конечностей через решетку электродного пола камеры. Если крыса не нажимала на педаль, то через каждые 1000 мс подавалось электрокожное раздражение. В том случае, если крыса манипулировала педалью **во время действия** безусловного стимула, электрошоковой стимул немедленно прерывался (число полученных импульсов снижалось, и, в зависимости от скорости реакции животного, могло составлять от 1 до 9) – «число избавлений» [5]. Таким образом, продолжительность электрокожного воздействия у лабораторных грызунов, обучившихся манипулировать рычагами, сокращалось. Если крыса осуществляла манипуляцию любым из рычагов **до подачи** электрического тока, это отставляло удар током на 60 с («избегание»). Эффективность оперантной деятельности крыс оценивали по критерию общее число нажатий на рычаги до подачи электрошока, «число избеганий» [5]. Сила тока составляла в период обучения $3,6 \pm 0,2$ мА, при воспроизведении навыка нажатия на педаль - 0,4 мА.

Оценивали оперантную деятельность крыс на протяжении 4 последовательных дней обучения. Обучение навыку нажатия на педаль проводили в режиме 4 дня в неделю, воспроизведение выработанного навыка осуществляли дважды – в первый раз- на фоне 24-часовой депривации парадоксальной фазы сна, спустя 5-12 суток после 4-го обучающего сеанса, и повторно - через 21 сутки после 4-го сеанса выработки инструментального оборонительного рефлекса. Продолжительность

каждого из сеансов составляла 1 ч. Эксперименты осуществляли в утренние и дневные часы. Растворитель или дипептид применяли 6-кратно: 4-кратно в дни обучения (за 30 мин до высадки в оперантные камеры); пятое введение – за 5-25 мин до ДПФС и шестая инъекция – перед воспроизведением инструментального оборонительного рефлекса (за 30 мин до помещения в установку «The Lafayette Instrument Modular Test Chamber»). При этом 1–4 дни обучения соответствовали 1-4 кратному применению тестируемых образцов, первое воспроизведение навыка осуществлялось после 6 введений, в дальнейшем растворитель и Pro-Gly не применяли (второе воспроизведение осуществляли без введения образцов). Особям контрольных групп назначали растворитель (вода дистиллированная), крысам основных групп -Pro-Gly (Sigma, США) в дозе 0,5 мг/кг. Объем вводимого раствора составлял 1,0 мл на 100 г массы тела животного.

В исследованиях использовали дипептид *Pro-Gly*(P0880), сер. номер VCBV9787 – «Sigma Aldrich», США. Purity (TLCarea %) $\geq 98\%$, в экспериментальные группы включали по 7-8 особей.

Критический уровень статистической значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Данные представляли в виде $X \pm Sx$. Эксперименты выполнены в соответствии с Хельсинкской Декларацией о гуманном обращении с животными (1986 г).

Результаты и их обсуждение. При сопоставлении способности к выработке инструментального оборонительного условного рефлекса крыс SHR и Wistar контрольных групп выявлены отчетливые межлинейные различия. В первые сутки число избеганий у особей SHR было ниже в 1,5 раза, чем у особей Wistar ($35,4 \pm 20,4$ и $52,0 \pm 29,1$ соответственно), и в последующие сроки отмечалось заметное отставание спонтанно-гипертензивных крыс от нормотензивных грызунов по указанному показателю (рисунок 1, А, Б). У Wistar, но не у SHR, выявлено статистически значимое возрастание числа избеганий удара током в 1 сеансе воспроизведения навыка ($P < 0,05$, критерий Фридмана) в сравнении с обучающими сеансами (рисунок 1, А, Б).

Число животных, осуществивших 40 и выше избеганий, среди крыс SHR в 1 день выработки навыка – 14,3%, тогда как у особей Wistar соответствующий показатель был в 3,5 раза выше – 50%. Во вторые сутки межлинейные различия сохранились: значения соответствующего показателя у SHR были равны 28,6%, а среди крыс Wistar число животных, способных избежать воздействия аверсивного стимула, возросло до 62,5% (в 2,2 раза выше, чем у SHR в те же сроки). В последующем (3 и 4 сутки обучения, воспроизведение на фоне ДПФС и без такового) различия поведения спонтанно-гипертензивных и нормотензивных особей нивелировались (рисунок 2, А, Б).

Применение Pro-Gly способствовало нормализации поведения крыс SHR. В первые сутки число избеганий у крыс SHR основной группы было в 1,7 раза выше, чем у спонтанно-гипертензивных крыс контрольной группы ($61,9 \pm 40,0$ и $35,4 \pm 20,4$ соответственно), значения соответствующего показателя были сопоставимы с таковым у особей Wistar в контроле ($61,9 \pm 40,0$ и $52,0 \pm 29,1$ соответственно) – рисунки 1А, 1Б. Число особей с высоким уровнем избеганий в основной группе SHR составило

71,4% (в 5 раз выше, чем в контроле SHR) и было сопоставимым с условной «нормой» (Wistar; 50,0%) – рисунки 2А, 2Б.

Вместе с тем, позитивного влияния Pro-Gly на оперантное поведение крыс Wistar не было выявлено – рисунки 1Б и 2Б. Это может объясняться описанным в литературе отсутствием эффекта ноотропов в условиях «нормы».

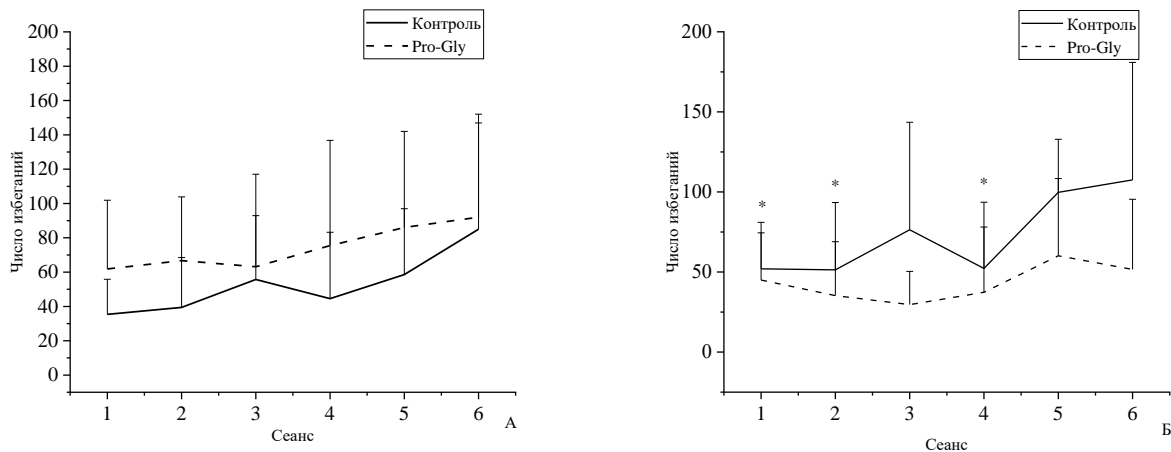


Рис. 1 – Влияние Pro-Gly (0,5 мг/кг, в/б) на динамику показателя «число избеганий» при выработке условнорефлекторного оборонительного навыка в оперантных камерах крыс SHR (А), крыс Wistar (Б)

Примечание: * - различия статистически достоверны с показателями в 5 сеанс (воспроизведение условнорефлекторного навыка на фоне ДПФС), $p < 0,05$, критерий Фридмана

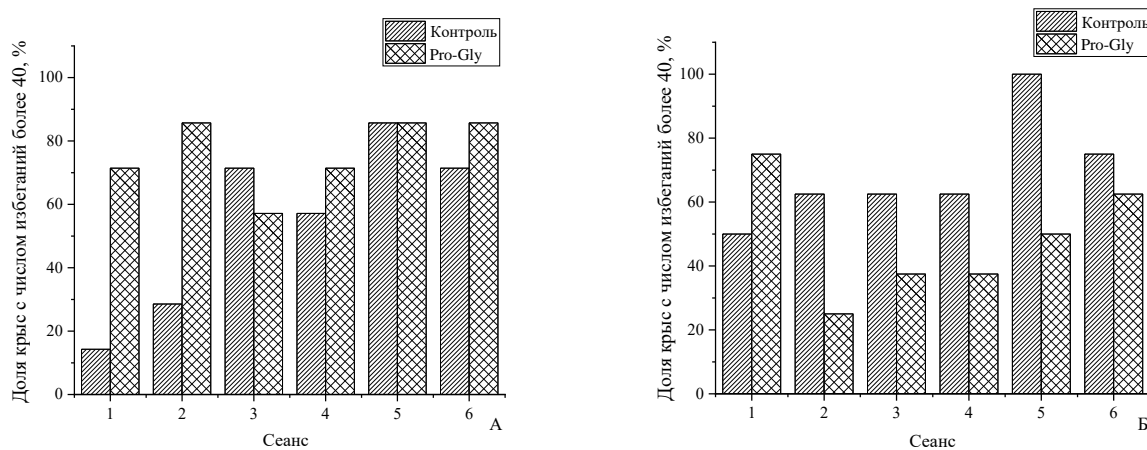


Рис. 2 – Увеличение на фоне введения Pro-Gly (0,5 мг/кг, в/б) доли животных с высоким числом избеганий при выработке условнорефлекторного оборонительного навыка в оперантных камерах крыс SHR (А), крыс Wistar (Б)

Выводы: дипептид Pro-Gly, вводимый в/б в дозе 0,5 мг/кг, облегчал оперантное обучение у крыс SHR в первые 2 суток выработки условнорефлекторного оборонительного рефлекса нажатия на педаль, в последующие сроки обучения и при воспроизведении навыка влияние Pro-Gly ослабевало. У особей Wistar Pro-Gly не оказывал существенного влияния на выработку и воспроизведение условного рефлекса.

Литература

1. Amenta, F., Tomassoni, D. 30. Spontaneously Hypertensive Rat (SHR): An Animal Model of Vascular Brain Disorder // *Animal Models of Dementia. Neuromethods.* – 2011. – Vol. 48 – P. 577–611.
2. Natsheh, J. Y. Dopaminergic Modulation of Goal-Directed Behavior in a Rodent Model of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder / J. Y. Natsheh, M. W. Shiflett // *Front. Integr. Neurosci.* – 2018. – Vol. 12. – P. 1-13.
3. Когнитивные расстройства у лиц пожилого и старческого возраста. Клинические рекомендации (утв. Минздравом России). Общественная организация "Российское общество психиатров"/ Общероссийская общественная организация "Российская ассоциация геронтологов и гериатров". 2020; 317 с.
4. Кравченко Е.В., Ольгомец Л.М. Влияние дипептида Pro-Leu на обучение инструментальному оборонительному рефлексу инбредных крыс SHR // *Экология и животный мир.* – 2015. – № 2. – С. 52-58.
5. Кравченко, Е.В. Нарушения когнитивных функций и их фармакологическая коррекция / Е.В. Кравченко, Н.А. Бизунок, Б.В. Дубовик // *Здравоохранение.* – 2022. - № 2. – С. 35-48.