

## N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH<sub>2</sub> УСИЛИВАЕТ СПОСОБНОСТЬ К ГАБИТУАЦИИ ВЕРТИКАЛЬНОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ У КРЫС WISTAR С ПАССИВНОЙ СТРАТЕГИЕЙ ПОВЕДЕНИЯ

Пилюцкая А.А.<sup>1,2</sup>, Кравченко Е.В.<sup>1</sup>, Ольгомец Л.М.<sup>1</sup>, Саванец О.Н.<sup>1</sup>, Бородина К.В.<sup>1</sup>, Голубович В.П.<sup>1</sup>, Зильберман Р.Д.<sup>1</sup>, Бизунок Н.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси»,

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет,  
кафедра фармакологии, г. Минск

**Ключевые слова:** N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH<sub>2</sub>, крысы, габитуация, вертикальная двигательная активность

**Резюме:** влияние N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH<sub>2</sub>, структурно родственного AVP<sub>6-9</sub>, на неассоциативное обучение было изучено в опытах на крысах Wistar с пассивной стратегией поведения, подвергшихся воздействию неизбежного стресса. Введение тетрапептида (1,0 мкг/кг, однократно, интраназально) усиливало процесс угашения исследовательско-ориентировочной реакции. Рекомендуется изучение влияния тетрапептида (1,0 мкг/кг) на имплицитную память.

**Resume:** the effect of N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH<sub>2</sub>, structurally related to the AVP<sub>6-9</sub> fragment, on non-associative learning was studied in male Wistar rats which were characterized by a passive strategy of behavior. Single intranasal injection of tetrapeptide at a dose of 1.0 μg/kg enhances the process of habituation of rearing. It is recommended to study effect of the peptide (1.0 μg/kg) on implicit memory.

**Актуальность.** Поиск средств терапии когнитивных расстройств (КР) – важная задача современной медицины. Мнестические нарушения часто развиваются при различных неврологических, психиатрических, соматических, эндокринных и иных заболеваниях. Широко известны лекарственные средства пептидной природы с ноотропными свойствами (церебролизин, кортексин, омберацетам и др.). Соединения, структурно родственные фрагментам окситоцина, оказывали выраженное мнемотропное действие в экспериментах на лабораторных грызунах [1, 2].

Вазопрессин – нейрогормон пептидной природы, который проявляет не только общеизвестные гормональные свойства, но и регулирует функции центральной нервной системы, в том числе – улучшает когнитивные функции, облегчает формирование декларативной памяти, обладает антиамнестическим действием. Данные современной медицинской литературы показывают, что некоторые метаболиты вазопрессина обладают мнестической активностью, сопоставимой с активностью молекулы гормона-предшественника, а модифицированные аналоги характеризуются выраженным мнемотропным действием в отношении выработки инструментальных условных рефлексов (ассоциативное обучение) у грызунов [3]. Вместе с тем, исследования эффектов вазопрессина, его фрагментов и синтетических аналогов на неассоциативное обучение не проводилось.

Таким образом, актуальным является поиск новых биологически активных веществ среди модифицированных фрагментов вазопрессина. Перспективно изучение влияния вышеназванных соединений на процессы неассоциативного обучения (габитуация).

**Цель:** изучить влияние N-Ас-DSer-Pro-DArg-Gly-NH<sub>2</sub> на процессы габитуации вертикальной двигательной активности (ВДА) у крыс-самцов линии Wistar с пассивной стратегией поведения, подвергшихся воздействию неизбежного стресса.

**Задачи:** 1. Оценить влияние N-Ас-DSer-Pro-DArg-Gly-NH<sub>2</sub> на процессы габитуации ВДА у крыс Wistar с пассивной стратегией поведения, подвергшихся воздействию неизбежного стресса (парадигма «принудительного плавания» - ПП); 2. Определить дозу тетрапептида, рекомендуемую для дальнейших исследований влияния N-Ас-DSer-Pro-DArg-Gly-NH<sub>2</sub> на когнитивные функции (КФ) грызунов.

**Материалы и методы.** Снижение уровня ВДА (габитуация) может рассматриваться как следствие ослабления исследовательско-ориентировочной реакции (ИОР) в результате оценки животным окружающей обстановки как биологически незначимой. Габитуация является формой неассоциативного обучения (имплицитная память). Методика «острого угашения» ИОР лабораторных грызунов с применением однократной 30-минутной актометрии используется для скрининга ноотропных свойств соединений. Многочисленные работы посвящены оценке нарушений габитуации при различных патологических состояниях организма [4-6].

Эксперименты были проведены на крысах-самцах Wistar. Из числа особей неранжированной популяции (n=30) отбирали крыс (n=22), характеризовавшихся пассивной стратегией поведения при акустическом воздействии высокой интенсивности, т.е. отсутствием у животного двигательной реакции после однократного предъявления акустического стимула (звуковое давление от 100 до 110 Дб; уровень громкости звука определен с помощью аппарата RadioShack, China).

Для моделирования «поведения отчаяния» у грызунов использовали парадигму «принудительного плавания» (Forced swimming test) по методу R.D. Porsolt в модификации D. A. Slattery, J. F. Cryan (2012) [7]: крыс двукратно помещали в сосуд цилиндрической формы диаметром 30 см и высотой 66 см. Цилиндр на высоту 38 см наполняли водой, температура которой поддерживалась на уровне 25 °С. Животное помещали в цилиндр с водой таким образом, чтобы оно не могло ни выбраться из сосуда, ни найти в нем опору, т. е. касаться лапами дна. Продолжительность каждого из двух сеансов ПП составляла 16 мин, интервал между ними был равен 24 ч. Введение соединений осуществляли за 15 мин до второго сеанса ПП. Спустя 20 мин по окончании второго сеанса ПП животных поодиночке помещали в многоканальный актометр «Универсал 22–32» на 30 мин с целью изучения динамики угашения ИОР.

Особям контрольной группы (КГ; n=8) назначали дистиллированную воду интраназально (и/н), а крысам основных групп – N-Ас-DSer-Pro-DArg-Gly-NH<sub>2</sub> в дозах 1,0 мкг/кг (ОГ-1; n=8) и 10,0 мкг/кг (ОГ-2; n=6) с использованием того же способа введения.

Определяли отношение уровня ВДА животных в заключительном 10-минутном интервале актометрии к исходному уровню (первые 10 мин).

Кроме того, процесс габитуации описывали с помощью уравнений линейной регрессии; для построения прямой вида  $y = a + bx$  использовали натуральные логарифмы значений ВДА. Угашение ВДА считали значимым, если снижение исследовательской реакции описывалось статистически значимыми прямыми. Коэффициент

$a$  отражает теоретически рассчитанный исходный уровень подвижности; коэффициент  $b$  характеризует выраженность угашения исследовательской реакции (положительные значения  $b$  свидетельствуют о нарушенной габитуации; чем ниже значения  $b$ , тем сильнее выражено неассоциативное обучение).

Для сравнения двух зависимых выборок применяли критерий Уилкоксона. Оценку статистической значимости прямых и статистической достоверности различий коэффициентов уравнений линейной регрессии проводили с применением программного обеспечения Biostat 4.03.

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РБ, принципам Базельской декларации и рекомендациям комиссии по биоэтике ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси» (проведение данного исследования одобрено протоколом № 2 от 07.09.2020 г.).

**Результаты и их обсуждение.** У крыс-самцов Wistar КГ уровень ВДА за последние 10 мин регистрации (период с 21 по 30 мин актометрии) снижался в 1,6 раза по отношению к первым 10 мин наблюдения ( $p > 0.05$ , критерий Уилкоксона); отсутствие статистически достоверного снижения ИОР могло указывать на недостаточную выраженность процесса угашения вертикальной двигательной активности, обусловленную повреждающим воздействием неизбежного стресса на поведение лабораторных животных.

В случае введения тетрапептида в дозе 10,0 мкг/кг изменений в сравнении с КГ не отмечалось: уровень ВДА снижался в 1,6 раза ( $p > 0.05$ , критерий Уилкоксона), что указывало на отсутствие мнемотропного эффекта N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH<sub>2</sub> в указанной дозе в описанных выше экспериментальных условиях. Вместе с тем, назначение N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH<sub>2</sub> в дозе 1,0 мкг/кг способствовало статистически значимому снижению числа вертикализаций – в 3,6 раза относительно исходного уровня ( $p < 0.024$ , критерий Уилкоксона).

Метод регрессионного анализа для оценки процесса габитуации в группах сравнения применяли только для КГ и ОГ-1 в связи тем, что выборочное распределение измеренной переменной в ОГ-2 отличалось от нормального. Установлено, что введение N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH<sub>2</sub> в дозе 1,0 мкг/кг сопровождалось существенным усилением процесса габитуации у стрессированных крыс-самцов Wistar с пассивным фенотипом поведения (снижение коэффициента  $b$  в ОГ-1 в сравнении с  $b$  КГ в 2,9 раза,  $p < 0.05$ ).

**Выводы:** 1. Тетрапептид N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH<sub>2</sub>, структурно родственной С-концевому фрагменту АВП, статистически значимо усиливал процессы габитуации ВДА у крыс Wistar с пассивной стратегией поведения, подвергшихся воздействию неизбежного стресса (процедура «принудительного плавания»); 2. Дальнейшие исследования влияния N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH<sub>2</sub> на КФ грызунов целесообразно проводить с использованием дозы 1,0 мкг/кг и/н.

#### Литература

1. Кравченко, Е.В. Влияние дипептида Leu-Pro hydrochloride на выработку условной реакции пассивного избегания у половозрелых и неполовозрелых крыс Wistar / Е.В. Кравченко,

И.В. Понтелеева // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі (сер. мед. навук). – 2012. – № 4. – С. 16–20.

2. Кравченко, Е.В. Влияние лейцил-пролина гидрохлорида на процессы угашения исследовательско-ориентировочной реакции у лабораторных мышей / Е.В. Кравченко, В.М. Насек, И.В. Жебракова // Весті Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі (сер. мед. навук). – 2019. – № 1. – С. 5–10.

3. Белокоскова, С.Г. Нейропептид вазопрессин и процессы памяти / С.Г. Белокоскова, С.Г. Цикунов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2014. – № 3. – С. 3-12.

4. Habituation of exploratory behaviour in VPA rats: animal model of autism / L. Olexová [et al.] // *Interdiscip. Toxicol.* – 2013. – Vol. 6, N 4. – P. 222–227.

5. Habituation of reflexive and motivated behavior in mice with deficient BK channel function / M. Typlt [et al.] // *Front. Integr. Neurosci.* – 2013. – Vol. 7. – Article 79. – URL <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fnint.2013.00079/full#h1>. (дата обращения 12.02.2021).

6. BK Channels Mediate Synaptic Plasticity Underlying Habituation in Rats / T. Zaman [et al.] // *Journal of Neuroscience.* – 2017. – Vol. 37, № 17. – P. 4540–4551.

7. Slattery, D. A. Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents / D. A. Slattery, J. F. Cryan // *Nature protocols.* – 2012. – Vol.7, № 6. – P. 1009–1014.