

О.Н. Саванец, К.В. Бородина

**N-AC-TRP-PRO-ARG-GLY-NH₂ УСТРАНЯЕТ 12-ЧАСОВЫЕ РИТМЫ
ГОРИЗОНТАЛЬНОЙ ДВИГАТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ У КРЫС WISTAR,
ПОДВЕРГШИХСЯ НЕИЗБЕГАЕМОМУ СТРЕССУ**

Научный руководитель: канд. биол. наук, доц. Е.В. Кравченко

Лаборатория токсикологии

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

O.N. Savanets, K.V. Borodina

**N-AC-TRP-PRO-ARG-GLY-NH₂ REMOVES THE 12-HOUR RHYTHMS
HORIZONTAL LOCOMOTOR ACTIVITY IN WISTAR RATS SUBJECTED TO
INESCAPABLE STRESS**

Tutor: PhD in biol. sciences, associate professor E.V. Kravchenko

Toxicology Laboratory

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

Резюме. Изучено влияние тетрапептида N-Ас-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ на 24- и 12-часовые биоритмы горизонтальной двигательной активности (ГДА) крыс Wistar, подвергшихся неизбежному стрессу. Установлено, что тетрапептид устранял 12-часовые ритмы ГДА у крыс Wistar, а также оказывал корригирующее действие на амплитуду и акрофазу циркадных и ультрадианных ритмов локомоторной активности в выбранных экспериментальных условиях.

Ключевые слова: биоритмы, тетрапептид, крысы, двигательная активность

Resume. The effect of N-Ac-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ tetrapeptide on 24- and 12-hour horizontal motor activity biorhythms in Wistar rats subjected to unavoidable stress was studied. It was found that tetrapeptide eliminated the 12-hour locomotor activity rhythms in Wistar rats and also had a corrective effect on the amplitude and acrophase of circadian and ultradian rhythms of locomotor activity under the selected experimental conditions.

Keywords: biorhythms, tetrapeptide, rats, locomotor activity

Актуальность. Подавляющее большинство значимых для организма физиологических и метаболических процессов контролируются циркадными ритмами [1]. Известно, что любое стрессорное воздействие сопровождается дезорганизацией биоритмов [2]. В ответной реакции на стресс ключевая роль принадлежит гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системе [1]. Гормон задней доли гипофиза вазопрессин не только модулирует реакцию организма на стресс [3], но и участвует в регуляции циркадных ритмов [4]. Вышесказанное хорошо объясняет регуляторные эффекты вазопрессина в отношении стресс-индуцированного десинхронизма. Ранее было показана пептидергическая регуляция колебательных процессов локомоторной активности мышей ICR [1]. Установлено, что пролинсодержащие тетрапептиды N-Ас-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ и N-Ас-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂, структурно родственные аргинин-вазопрессину, обладают активностью в отношении короткопериодных биоритмов поведенческой активности крыс Wistar на фоне стрессирующего воздействия [5]. Вместе с тем, соответствующие исследования по оценке эффектов соединений указанного ряда в отношении циркадных ритмов до настоящего времени не проводились.

Цель: изучение влияния тетрапептида N-Ас-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ на 24- и 12- часовые ритмы локомоторной активности крыс Wistar, подвергшихся «принудительному плаванию» (ПП).

Задачи:

1. изучить 24- и 12- часовые ритмы локомоторной активности крыс Wistar, подвергшихся ПП, на фоне введения N-Ас-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂;
2. оценить влияние тетрапептида N-Ас-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ на показатели 24- и 12 часовых ритмов горизонтальной активности крыс Wistar, на фоне неизбежного стресса.

Материалы и методы. Исследования проводили с использованием половозрелых крыс-самцов Wistar с массой тела 250 – 350 г, полученных в секторе биоиспытаний Института биоорганической химии НАН Беларуси.

Регистрацию показателя «горизонтальная двигательная активность» (ГДА) осуществляли на протяжении 18 часов в многоканальном актометре «Универсал 22–32», Республика Беларусь, оснащенный боксами небольших размеров (32 см × 22 см × 19 см). Эксперименты проводили в осенне-зимний период года (ноябрь-январь) с 17.15 до 11.15 или с 16.45 до 10.45 ч при искусственном освещении (источник освещения – 6 ламп дневного света SL 36/26-735 на высоте 2,59 м над поверхностью боксов). До высадки в камеры актометра животные подвергались неизбежному стрессу (ПП) в условиях высокой неопределённости среды (двукратное помещение особи в бассейн с водой на 16 мин) с интервалом 24 ч, последний раз – за 20 мин до экспозиции в боксы установки (рис. 1)

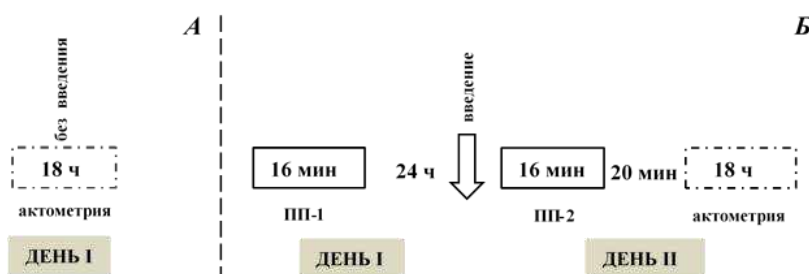


Рис. 1 – Схема эксперимента. *А* – для интактных животных (КГ-0); *Б* – для стрессированных крыс (КГ-1, ОГ-1, ОГ-2, ОГ-3); ПП-1 – принудительное плавание (сеанс 1), ПП-2 – принудительное плавание (сеанс 2)

Особям контрольной группы КГ-1 (n=10) назначали дистиллированную воду интраназально (и/н), а грызунам основных групп ОГ-1 (n=10), ОГ-2 (n=10) и ОГ-3 (n=19) – тетрапептид N-Ас-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ (синтезирован в лаборатории прикладной биохимии Института биоорганической химии НАН Беларуси) [6] в дозах 0,1 мкг/кг; 1,0 мкг/кг; 10,0 мкг/кг соответственно (с использованием того же способа введения). Крысы Wistar группы КГ-0 (n=7), не получавшие тетрапептид или растворитель, не подвергались неизбежному стрессу («интактный» контроль).

Посредством компьютерной программы методом косинор-анализа определяли амплитуду (*A*), акрофазу (ϕ) и параметры, необходимые для построения эллипсов ошибок. Наличие или отсутствие статистически достоверных ритмов (24 ч, 12 ч) ($p <$

0,05) определялось графически: существование ритмов считали доказанным, если эллипс не перекрывал начало системы координат. Обработку результатов осуществляли с помощью программного обеспечения Biostat 4.03, «Mouse Statistic», Cosinor 2.5 для Excel, CorelDRAW.

Результаты и их обсуждение. У интактных животных (КГ-0) отмечался чётко выраженный высокоамплитудный ритм с превалирующей в спектрограмме 24-часовой составляющей ($p < 0,05$), который оказался достаточно стабильным к воздействию плавательного стресса. Введение пептида во всех исследуемых дозах не препятствовало формированию статистически достоверного циркадного ритма ГДА.

Интактные крысы характеризовались отсутствием 12-часовой гармоник спектрограммы. У стрессированных крыс десинхроноз проявлялся изменением спектральных характеристик с появлением статистически достоверных более коротких «патологических» 12-часовых ритмов ГДА [7]. Тетрапептид N-Ас-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ в дозах 0,1 мкг/кг и 10 мкг/кг, но не 1,0 мкг/кг, устранял 12-часовые ритмы ГДА (табл. 2).

Табл. 1. Влияние N-Ас-Trp-Pro-Gly-NH₂ (и/н) на 24-часовые ритмы ГДА крыс Wistar

Группа / число животных	A, усл.ед.	ϕ , ч:мин	p
КГ-0 (n=7)	428,9	18:21	$p < 0,05$
КГ-1 (n=10)	501,6	01:03	$p < 0,05$
ОГ-1 (n=10)	336,4	18:45	$p < 0,05$
ОГ-2 (n=10)	477,5	18:39	$p < 0,05$
ОГ-3 (n=19)	319,9	21:45	$p < 0,05$

Примечание: здесь и ниже: КГ-0 – интактные животные (без введения растворителя), КГ-1 – крысы, подвергшиеся ПП, которым вводили растворитель (ДВ); ОГ-1, ОГ-2, ОГ-3 – грызуны, получавшие N-Ас-Trp-Pro-Gly-NH₂ в дозах 0,1, 1,0 и 10,0 мкг/кг соответственно, на фоне ПП.

Табл. 2. Влияние N-Ас-Trp-Pro-Gly-NH₂ (и/н) на 12-часовые ритмы ГДА крыс Wistar

Группа / число животных	A, усл.ед.	ϕ , ч:мин	p
КГ-0 (n=7)	195,0	00:03	-
КГ-1 (n=10)	301,0	02:21	$p < 0,05$
ОГ-1 (n=10)	91,2	02:09	-
ОГ-2 (n=10)	246,8	21:27	$p < 0,05$
ОГ-3 (n=19)	62,5	00:15	-

Неизбегаемый стресс в сочетании с инъекционным стрессом провоцировал возрастание амплитуды циркадного ритма локомоторной активности, что согласовалось с ранее опубликованными результатами [8]. Тетрапептид во всех изученных дозах способствовал снижению амплитуды 24-часового ритма до уровня интактного контроля. Снижение амплитуды 12-часовых ритмов, повышенной после процедуры ПП, замечено при введении N-Ас-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ в дозах 0,1, 1,0 и 10,0 мкг/кг относительно уровня КГ-1, что характерно для веществ с противотревожным действием [2].

Акрофаза 24-часовых ритмов двигательной активности у особей, не подвергавшихся стрессу, приходилась на начало «тёмного периода» актометрии (табл. 1). По

данным литературы известно, что «слабый инъекционный» стресс отражается на циркадианном ритме локомоции крыс, вызывая миграцию акрофазы вправо [9]. ПП способствовало сдвигу акрофазы циркадного ритма ГДА грызунов вправо на 6 часов и более в сравнении с крысами без ПП: значения ϕ были равны 18:21 в группе КГ-0 и 01:03 – у особей КГ-1 (табл. 1). Тетрапептид N-Ас-Trp-Pro-Gly-NH₂ приближал значения вышеназванного показателя к уровню интактных животных в дозах 0,1 мкг/кг и 1,0 мкг/кг, в меньшей степени – в дозе 10,0 мкг/кг.

На фоне неизбежного стресса акрофаза 12-часового ритма ГДА мигрировала вправо на 2 часа и более, введение тетрапептида во всех исследуемых дозах способствовало сдвигу пика подвижности влево.

Выводы: в результате исследования выявлено, что пролинсодержащий тетрапептид N-Ас-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ в дозах 0,1 и 10,0 мкг/кг препятствовал стресс-индуцированному формированию 12-часовых биоритмов локомоторной активности у крыс-самцов Wistar. Во всех изученных дозах (0,1, 1,0 и 10, мкг/кг) тетрапептид способствовал снижению амплитуды ритмов на фоне стрессирующего воздействия (принудительное плавание) и приближал к норме значения акрофазы циркадных и ультрадиантных ритмов локомоторной активности.

Литература

1. Кравченко, Е.В. Регуляция ультрадиантных ритмов двигательной активности олигопептидами, структурно родственными окситоцину [Текст]* / Е.В. Кравченко, Н.А. Бизунок, Б.В. Дубовик // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2021. – Т.65, № 2. – С. 191-198.
2. Арушанян, Э.Б. Хронобиологические особенности антистрессорного действия анксиолитических средств [Текст]* / Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер // Эксп. и клин. фармакология. – 1998. – Т. 61, № 6. – С. 13–16.
3. Vasopressin but not oxytocin responds to birth stress in infants [Text]* / S.F. Malfetheriner, E. Bataiosu-Zimmer, H. Michel et al. // Front. Neurosci. – 2021. – Vol. 27. – P. 1-4.
4. Vasopressin facilitates GABAergic transmission in rat hippocampus via activation of V (1A) receptors [Text]* / G. Ramanathan, N.I. Cilz, L. Kurada et al. // Neuropharmacology. – 2012. – Vol. 63, № 7. – P. 1218-1226.
5. Влияние синтетических аналогов фрагмента аргинин-вазопрессина на ультрадиантные ритмы активности крыс / О.Н. Саванец, К.В. Бородина, Л.М. Ольгомец и др. // Молодежь в науке – 2021 : тез. докл. XVIII Междунар. науч. конф. молодых ученых. В 2 ч. Ч. 2. Медицинские, физико-математические, физико-технические науки, химии и науки о Земле / Нац. акад. наук Беларуси, Совет молодых ученых ; под ред. В. Г. Гусакова. – Минск, 2021. – С 70-72.
6. Синтез и исследование антидепрессивных свойств новых аналогов аргинин-вазопрессина [Текст]* / К.В. Бородина, О.Н. Саванец, Е.С. Пустюльга // Биоорганическая химия. – 2022. – Т. 48, № 3. – С. 357-370.
7. Кравченко, Е.В. Влияние изменений состояния нейромедиаторных и пептидергических систем мозга на циркадные ритмы и поведение крыс [Текст]* / Е.В. Кравченко, Л.М. Ольгомец // Ж. высш. нервн. деят. им. И. П. Павлова. – 2012. – Т. 62, № 4. – С. 453-464.
8. Арушанян, Э.Б., Тофизопам и мелатонин ослабляют пере-стройку ритма суточной подвижности крыс при инъекционном стрессе [Текст]* / Э.Б. Арушанян, А.В. Попов // Эксп. и клин. фармакология. – 2006. – Т. 69, №2. – С. 14-17.
9. Арушанян, Э.Б. Особенности временной организации поведенческого ответа на кофеин [Текст]* / Э.Б. Арушанян, А.В. Попов // Эксп. и клин. фармакология. – 2005. – Т. 68, № 1. – С. 10-12.