

# КОМБИНАЦИЯ ДИПЕПТИДА PRO-GLY И МК-801 ОБЛЕГЧАЕТ ПРОЦЕССЫ НЕАССОЦИАТИВНОГО ОБУЧЕНИЯ В УСЛОВИЯХ СЛАБОГО СТРЕССА ПРИ ГРУППОВОЙ АКТОМЕТРИИ

Е. В. Кравченко<sup>1</sup>, Л. М. Ольгомец<sup>1</sup>, О. Н. Саванец<sup>1</sup>, Н. А. Бизунок<sup>2</sup>, Б. В. Дубовик<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь, [kravchenko@iboch.by](mailto:kravchenko@iboch.by)

<sup>2</sup>Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск, Республика Беларусь

**Введение.** Повышенная тревожность у пожилых людей, влияющая на общее качество их жизни, часто сопровождается беспокойством и заметными трудностями с концентрацией внимания. Различные тревожные состояния способны спровоцировать нарушения мнестических и когнитивных функций – КФ (от едва заметных до существенно снижающих эффективность интеллектуальной деятельности) [1]. У пожилых пациентов «стандартные» анксиолитики способны вызывать симптомы соматической и неврологической патологии. В соматическом статусе – травмы на разных этапах заживления: гематомы, ссадины, рубцы, обстоятельства получения которых больные не помнили. В неврологическом статусе отмечались гипомимия, вялость рефлексов, мышечный гипотонус, нарушения координации движений, неустойчивость при ходьбе, вегетативная лабильность, постоянный низкоамплитудный тремор рук, языка, век [2]. В связи с вышесказанным высоко актуальным является поиск новых эффективных средств (не обладающих побочными эффектами, в т.ч. – негативным влиянием на мнестические функции) для терапии тревожных состояний. Необходимо отметить, что при стихийных бедствиях и техногенных катастрофах (включая радиационные) уровень тревожности резко возрастает.

Окситоцин (ОТ; Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>) – нейропептид, который играет не только гормональную роль, но и регулирует такие функции мозга, как узнавание чужих лиц и социальное взаимодействие (Lopatina O. L. et al., 2018, Yao S. et al., 2018 – цит. по [3]). Полагают, что ОТ модулирует КФ [3], оказывая влияние на рабочую память [3] и исполнительные функции [3] (планирование, принятие решений, прогнозирование последствий для потенциально возможного поведения, а также понимание и коррекцию социального поведения). ОТ *in vitro* снижал активность рецепторов глутамата N-метил-D-аспартатного (NMDA) типа, тем самым оказывая влияние на один из основных нейротрансмиссивных механизмов, модулирующих процессы обучения и памяти, а также регулировал социопропространственную память [4]. С учетом вышесказанного представляло интерес оценить возможное взаимодействие дипептида Pro-Gly, структурно родственного фрагменту ОТ (Pro-

Leu-Gly-NH<sub>2</sub>), и МК-801 (дизоцилпина, неконкурентного антагониста N-метил-D-аспаратных рецепторов).

Одной из форм неассоциативного обучения является габитуация (*habituation*, привыкание) – относительно устойчивое уменьшение реакции после непрерывной или (в большинстве случаев) многократной стимуляции, которая не сопровождается подкреплением [5; 6]. При многократном систематическом предъявлении одного и того же стимула реакция постепенно ослабевает и может исчезнуть совсем, т.е. происходит привыкание к раздражителю. Габитуация является формой неассоциативного обучения (имплицитная память).

Целью исследования явилось изучение влияния дипептида Pro-Gly в комбинации с МК-801 и без такового на процессы неассоциативного обучения у мышей.

**Материалы и методы.** Проведены исследования субстанции Pro-Gly (P0880-1G), с. ВCBV9787 и субстанции МК-801 hydrogen maleate (M107-50MG), с. 078K4606 производства Sigma-Aldrich, США.

В эксперименты включали 280 субмиссивных аутбредных мышей-самцов ICR. Особей с доминантным рангом не включали в эксперименты. Формировали 28 экспериментальных групп, число животных в каждой группе составляло 10 особей. В их числе: контроль-1 (К-1), интактный – 12 групп; контроль-2 (К-2; «инъекционный стресс»: введение растворителя, здесь и ниже – вода для инъекций, внутривенно (в/в) + введение растворителя, в/в) – 4 группы; основные группы 1–3: Pro-Gly в дозе 0,5 мг/кг в/в + растворитель – 4 группы; Pro-Gly (0,5 мг/кг, в/в) + МК-801 (0,05 мг/кг, в/в) – 4 группы; МК-801 (0,05 мг/кг, в/в) + растворитель – 4 группы. Исследуемые соединения вводили однократно в объеме 0,1 мл на 10 г массы тела мыши. Pro-Gly вводили за 20–35 мин до высадки мышей в камеру актометра, а МК-801 – за 5–20 мин до начала опыта.

Вертикальную (ВДА) двигательную активность измеряли на протяжении 30 мин с использованием многоканального актометра «Activity Cages» (Ugo Basile, Италия) в условиях размещения мышей группами по 10 грызунов в камерах размером 41 см × 44 см × 32 см (в условиях небогатой среды – без поилки, кормушки, подстилки). Продолжительность нахождения в боксе составляла 30 мин; сопоставляли подвижность в первые 5 мин и в последние 5 мин актометрии.

Статистическую обработку цифровых показателей проводили с использованием программного обеспечения Biostat 4.03. Данные представлены в виде  $X \pm Sx$ .

**Результаты исследования и их обсуждение.** В условиях проведенных нами экспериментов при групповой высадке у особей интактного контроля (К-1) были отмечены хорошо выраженные процессы привыкания: в 26-ю, 27-ю, 30-ю мин наблюдения отмечено статистически значимое ( $p < 0,05$ ) снижение числа вертикализаций по сравнению с 3-й, 4-й, 5-й минутами наблюдения – см. таблицу.

В условиях слабого «инъекционного» стресса, вызванного процедурой в/в введения растворителя, у мышей контрольной группы 2 (К-2) отмечена резкая дисфункция процесса угашения ИОР – ни в одном из интервалов наблюдения не выявлено статистически значимого снижения ВДА.

Pro-Gly и МК-801, назначаемые по отдельности, не препятствовали нарушениям неассоциативного обучения, связанного со стрессирующим воздействием. В то же время их комбинация существенно облегчала мнестические функции грызунов: различия с исходным уровнем были статистически достоверными, при этом выраженность габитуации даже превышала уровень интактного контроля. Так, если у особей К-1 ВДА в 30-ю мин составила 81,9 % от уровня в 1-ю мин регистрации ( $85,8 \pm 9,4$  усл. ед. и  $104,8 \pm 9,0$  усл. ед. соответственно, различия с 1-й мин статистически незначимы), то у грызунов, получавших комбинацию Pro-Gly и МК-801, ВДА в 30-ю мин было найдено равным лишь 21,7 % от ВДА в 1-ю мин актометрии,  $p < 0,05$  ( $14,3 \pm 3,8$  усл. ед. и  $65,8 \pm 5,4$  усл. ед. соответственно).

**Влияние дипептида Pro-Gly (0,5 мг/кг, в/б) на процессы неассоциативного обучения у мышей ICR в условиях групповой актометрии продолжительностью 30 мин, и модификация его эффектов МК-801 (0,05 мг/кг, в/б)**

Группа	ВДА, усл. ед. / Время, мин				
	1-я мин	2-я мин	3-я мин	4-я мин	5-я мин
К-1 (интактный) (N = 12; n = 10)	104,8 ± 9,0	111,7 ± 9,3	122,5 ± 9,6	121,6 ± 8,4	114,3 ± 7,8
К-2 (раств-ль + раствор-ль) (N = 4; n = 10)	58,8 ± 14,9	60,3 ± 13,5	50,0 ± 11,7	62,5 ± 9,8	40,5 ± 8,1
Pro-Gly + раствор-ль (N = 4; n = 10)	52,8 ± 14,8	45,3 ± 12,0	53,3 ± 15,5	54,0 ± 14,2	48,5 ± 13,7
Pro-Gly + МК-801 (N = 4; n = 10)	65,8 ± 5,4	65,0 ± 4,0	52,5 ± 5,6	47,3 ± 4,0	38,0 ± 4,9
МК-801 + раствор-ль (N = 4; n = 10)	60,5 ± 17,4	68,3 ± 10,4	58,0 ± 12,6	46,0 ± 4,9	40,3 ± 5,0
	26-я мин	27-я мин	28-я мин	29-я мин	30-я мин
К-1 (интактный) (N = 12; n = 10)	82,9 ± 12,1 <sup>3,4,5</sup>	76,5 ± 8,6 <sup>3,4,5</sup>	93,4 ± 8,9	91,5 ± 9,9	85,8 ± 9,4 <sup>3,4</sup>
К-2 (раств-ль + раствор-ль) (N = 4; n = 10)	25,5 ± 10,4	30,3 ± 13,4	30,5 ± 16,0	33,3 ± 16,4	33,8 ± 14,8
Pro-Gly + раствор-ль (N = 4; n = 10)	52,5 ± 17,7	52,8 ± 14,5	47,3 ± 9,4	44,5 ± 12,1	54,8 ± 7,4
Pro-Gly + МК-801 (N = 4; n = 10)	18,3 ± 2,8 <sup>1</sup>	21,0 ± 8,0	18,8 ± 6,8 <sup>1</sup>	19,0 ± 4,2 <sup>1</sup>	14,3 ± 3,8 <sup>1,2,6</sup>
МК-801 + раствор-ль (N = 4; n = 10)	16,3 ± 4,2	15,8 ± 2,0	28,3 ± 15,4	22,5 ± 11,9	21,5 ± 11,3

Примечание – N – число групповых высадок; n – число мышей в группе в каждой высадке; 1 – различия с уровнем в 1-ю мин статистически значимы,  $p < 0,05$ , критерий Фридмана с апостериорным анализом по критерию Даннета; 2 – то же, критерий Фридмана с апостериорным анализом по критерию Ньюмена-Кейлса; 3 – различия с уровнем в 3-ю мин статистически значимы,  $p < 0,05$ , критерий Фридмана с апостериорным анализом по критерию Ньюмена-Кейлса; 4 – то же, различия с уровнем в 4-ю мин статистически значимы,  $p < 0,05$ ; 5 – то же, различия с уровнем в 5-ю мин статистически значимы,  $p < 0,05$ ; 6 – различия с уровнем во 2-ю мин статистически значимы,  $p < 0,05$ , критерий Фридмана с апостериорным анализом по критерию Ньюмена-Кейлса.

**Заключение.** Комбинация Pro-Gly (0,5 мг/кг, в/б) и МК-801 (0,5 мг/кг, в/б) статистически значимо корректировала нарушенные стрессом процессы неассоциативного обучения. В условиях однократной групповой (по 10 особей одновременно) актометрии указанная комбинация способствовала усилению внутрисессионной габитуации ВДА у мышей ICR. Перспективно дальнейшее изучение механизмов действия Pro-Gly с целью поиска эффективной терапии стресс-индуцированных когнитивных нарушений, в том числе – у лиц пожилого возраста.

#### Литература

1. Особенности когнитивных процессов у больных с различной структурой тревожных расстройств / А. А. Чепелюк [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии. – 2018. – № 3. – С. 4–9.
2. Отдаленные последствия длительного неконтролируемого употребления анксиолитических и снотворных препаратов в пожилом возрасте: когнитивные расстройства / Н. Н. Иванец [и др.] // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2015. – Т. 115, № 12. – С. 50–64.
3. Effects of oxytocin on fear memory and neuroinflammation in a rodent model of posttraumatic stress disorder / S.-Ch. Wang [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2018. – Vol. 19 (12). – P. 3848–3863.
4. Ophir, A. G. Navigating monogamy: nonapeptide sensitivity in a memory neural circuit may shape social behavior and mating decisions / A. G. Ophir // Front. Neurosci. – 2017. – Vol. 11. – a397. <https://doi.org/10.3389/fnins.2017.00397>
5. Habituation is more than learning to ignore: multiple mechanisms serve to facilitate shifts in behavioral strategy / T. A. McDiarmid, A. J. Yu, C. H. Rankin // BioEssays. – 2019. – Vol. 41 (9). – e1900077.
6. Schmid, S. Habituation mechanisms and their importance for cognitive function / S. Schmid, D. A. Wilson, C. H. Rankin // Front. Integr. Neurosci. – 2015. – Vol. 8 (13). – Art. 97. – P. 1–2. <https://doi.org/10.3389/fnint.2014.00097>

#### THE COMBINATION OF PRO-GLY DIPEPTIDE AND MK-801 FACILITATES NON-ASSOCIATIVE LEARNING UNDER LOW STRESS IN GROUP ACTIMETRY

E. V. Kravchenko<sup>1</sup>, L. M. Olgomets<sup>1</sup>, O. N. Savanets<sup>1</sup>, N. A. Bizunok<sup>2</sup>, B. V. Dubovik<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus, [kravchenko@iboch.by](mailto:kravchenko@iboch.by)

<sup>2</sup>Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

**Abstract.** Oxytocin (OT) is a neuropeptide that not only plays a hormonal role, but also modulates cognitive functions. OT *in vitro* reduced the activity of N-methyl-D-aspartate (NMDA)-type glutamate receptors, thereby influencing one of the main neurotransmitter mechanisms modulating learning and memory processes. Taking into account the above, it was of

interest to evaluate the interaction of the Pro-Gly dipeptide, structurally related to the OT fragment (Pro-Leu-Gly-NH<sub>2</sub>), and MK-801 (dizocilpine, a non-competitive antagonist of N-methyl-D-aspartate receptors). The purpose of the study was to study the effect of Pro-Gly dipeptide in combination with M-801 and without it on the processes of non-associative learning in mice. In experiments on 280 outbred male ICR mice, studies of the substance Pro-Gly. BCBV9787 and substances MK-801 hydrogen maleate (M107-50MG), p. 078K4606 manufactured by Sigma-Aldrich, USA. 28 experimental groups were formed, the number of animals in each group was 10. The experimental groups included: control-1 (C-1), intact – 12 groups; control-2 (K-2), “injection stress”: introduction of a solvent – 4 groups; main groups 1-3: administration of Pro-Gly (0.5 mg/kg, i.p.) + solvent – 4 groups; Pro-Gly (0.5 mg/kg, i.p.) + MK-801 (0.05 mg/kg, i.p.) – 4 groups; MK-801 at a dose of 0.05 mg/kg i.p. + solvent – 4 groups. Vertical motor activity (VLA) was measured for 30 minutes using a multichannel actometer “Activity Cages” (Ugo Basile, Italy). We compared mobility in the first 5 minutes and in the last 5 minutes of group actimetry (10 individuals at a time). In K-1, well-defined habituation processes were noted ( $p < 0.05$ ). Under conditions of mild “injection” stress, mice in control group 2 (K-2) showed sharp disturbances in the habituation process. Pro-Gly and MK-801, administered separately, did not prevent stress-related impairments in non-associative learning. At the same time, the combination of Pro-Gly (0.5 mg/kg, i.p.) and MK-801 (0.5 mg/kg, i.p.) statistically significantly corrected stress-impaired non-associative learning processes.

**Keywords:** habituation, Pro-Gly, MK-801, combination, ICR mice