

## ВЛИЯНИЕ ДИПЕПТИДОВ PRO-GLY И PRO-LEU НА УЛЬТРАДИАННЫЕ РИТМЫ ГДА, И МОДИФИКАЦИЯ БИОРИТМОВ МК-801 У СУБМИССИВНЫХ МЫШЕЙ ICR В УСЛОВИЯХ ГРУППОВОЙ АКТОМЕТРИИ

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

**Аннотация.** Синхронизация биоритмов с целью повышения эффективности деятельности актуальна как при ликвидации чрезвычайных ситуаций, так и в условиях работы, социальных контактов при отсутствии непосредственной угрозы для здоровья людей. Актуален поиск соединений с хронотропными свойствами, которые бы препятствовали рассогласованию ультрадианных ритмов (УР) в условиях социальных взаимодействий. В задачи исследования входила оценка возможных хронотропных свойств пролинсодержащих дипептидов. С целью изучения нейротрансмиттерных механизмов действия Pro-Leu и Pro-Gly был использован МК-801 (дизоциллин). В эксперименты были включены 380 аутбредных мышей-самцов ICR (субмиссивные особи). Число животных при каждой групповой высадке составляло 10 особей в группе. Особи К-1 подвергались только стрессу «новизны», связанному с незнакомыми условиями в камере актометра. Мыши групп К-2 и основных групп 1–5 подвергались как стрессу «новизны», так и зоосоциальному стрессу, связанному с формированием новой популяции, а также – «инъекционному» стрессу. Животные основных групп получали Pro-Gly либо Pro-Gly+МК-801, или Pro-Leu, или Pro-Leu + МК-801, либо МК-801. В группе К-1 присутствовали короткопериодные ритмы активности, ритмы средней продолжительности и длиннопериодные УР. Стресс у грызунов группы К-2 вызывал обеднение спектра ритмов – способствовал уменьшению доли короткопериодных ритмов локомоторной активности. Pro-Gly восстанавливал структуру УР. При совместном введении Pro-Gly усиливал, а Pro-Leu ослаблял эффекты МК-801.

**Ключевые слова:** Pro-Gly, Pro-Leu, МК-801, ультрадианные ритмы, мыши

**Введение.** В процессе жизнедеятельности в условиях групповых взаимодействий возникает необходимость синхронизации биоритмов нескольких одновременно функционирующих индивидуумов. Синхронизация биоритмов с целью повышения эффективности деятельности актуальна как при ликвидации чрезвычайных ситуаций, так и в условиях работы, социальных контактов при отсутствии непосредственной угрозы для здоровья людей.

Индивидуальные биоритмы могут существенно отклоняться от среднего уровня в популяции, что препятствует ритмичной активности: в среднем циркадный период человека составляет 24,2 ч, однако выявлена разница между значениями у отдельных людей – около часа (23,5–24,5 ч), что повышает вероятность рассогласования процессов, выполняемых совместно с лицами со «среднестатистическими» параметрами ритмов [1]. Кроме того, существуют гендерные различия: у женщин этот период составляет менее 24 ч, что предрасполагает к прогрессирующему нарушению фазы циркадных ритмов [1]. Современные данные подтверждают наличие возрастных изменений у пожилых людей в продолжительности и структуре сна – снижение медленноволнового сна, медленных волн (< 4 Гц [1]) и медленноволновой активности (спектральная мощность 0,5–4 Гц) [2].

Аналогичным образом, в условиях стресса в непредсказуемых ситуациях, а также – при депрессивных расстройствах и у пожилых лиц меняется структура ультрадианных ритмов (ритмы продолжительностью менее 24 ч – минутные, часовые). В жизни человека УР не менее важны, чем циркадные. УР обеспечивают преимущества в адаптации у грызунов, что позволяет предположить эволюционирование УР для обеспечения социальной синхронности [3]. Механизмы генерации УР недостаточно изучены; короткопериодные биоритмы локомоторной активности зависят от так называемого «дофаминергического ультрадианного генератора» [3]. Фармакологическая коррекция нарушенных УР (в том числе – у лиц пожилого возраста) способствовала бы продуктивной вовлеченности в совместную деятельность. Отсутствие синхронизации с другими членами общества может вести к социальной изоляции, которая, в свою очередь, негативно влияет на благополучие пожилых людей [4].

Целью исследования явился поиск дипептидов с хронотропными свойствами, которые бы препятствовали рассогласованию УР в условиях агонистических социальных взаимодействий и «инъекционного» стресса, а также изучение возможных нейротрансмиттерных механизмов их

хронофармакологического действия. Эта задача решается за счет их совместного применения с МК-801 (селективный антагонист рецепторов N-метил-D-аспартата, оказывает анксиолитическое и антиноцицептивное влияние у приматов (Rupniak N. M. *et al.*, 1993) и у грызунов (Xie Z., Commissaris R. L., 1992), тесно взаимодействует с дофаминергической системой) [5].

**Материалы и методы.** В эксперименты были включены 380 аутбредных мышей-самцов ICR (субмиссивные особи). Проводили актометрию на протяжении 30 мин с поминутной регистрацией горизонтальной двигательной активности (ГДА) в многоканальном актометре «Activity Cages» (Ugo Basile, Италия).

Особи контрольной группы К-1 ( $N = 12$ , где  $N$  – число групповых высадок; количество особей в группе при каждой высадке – 10 здесь и далее) подвергались только стрессу «новизны». Мыши контрольной группы К-2 ( $N = 7$ , в том числе подгруппы К-2А –  $N = 4$  и К-2Б –  $N = 3$ ) и основных групп (ОГ) подвергались дополнительно зоосоциальному (вследствие контакта с незнакомыми особями - группа из 10 мышей включала по 2–4 грызуна из 3–5 «домашних» клеток) и «инъекционному» стрессу. В число ОГ входили: 1) Pro-Gly (0,5 мг/кг, в/б) + растворитель (Р, дистиллированная вода) –  $N = 4$ ; 2) Pro-Gly (0,5 мг/кг, в/б) + МК-801 (0,05 мг/кг, в/б) –  $N = 4$ ; 3) Pro-Leu (0,5 мг/кг, в/б) + Р –  $N = 3$ ; 4) Pro-Leu (0,5 мг/кг, в/б) + МК-801 (0,05 мг/кг, в/б) –  $N = 4$ ; 5) МК-801 (0,05 мг/кг, в/б) + Р –  $N = 4$ . Параметры УР оценивали в летний период (август) во всех группах, за исключением К-2Б (сентябрь).

Для оценки хронотропного действия использовали программы «Cosinor Ellipse 2006» (данные за 1-ю мин актометрии не учитывали) и «Statistica 10» (спектральный анализ). Определяли амплитуду ритма ( $A$ ), акрофазу ( $\varphi$ ) и мезор ( $h$ ).

**Результаты исследования и их обсуждение.** По данным cosinor-анализа в группе К-1 выявлены 6-, 12- и 24-минутные ритмы ГДА, а стресс у грызунов группы К-2А способствовал элиминации 6- и 12-мин УР, в то время как 24-мин ритмика сохраняла статистическую достоверность (таблица). Значения акрофазы  $\varphi$ , амплитуды  $A$  и мезора  $h$  ГДА 24-мин ритмов у животных группы К-2А отличались от «нормы» (интактный контроль, К-1);  $h$  К-2А был статистически достоверно снижен в сравнении с К-1,  $p < 0,05$ . Соответствующие показатели составляли в группе К-1 5,9 мин ( $\varphi$ ;  $p < 0,05$ ), 30,8 усл. ед. ( $A$ ;  $p < 0,05$ ), 247,9 усл. ед. ( $h$ ;  $p < 0,05$ ), тогда как у стрессированных грызунов группы К-2А значения соответствующих показателей были найдены равными 4,2 мин ( $\varphi$ ;  $p < 0,05$ ), 42,8 усл. ед. ( $A$ ;  $p < 0,05$ ), 139,8 усл. ед. ( $h$ ;  $p < 0,05$ ). Таким образом, в группе К-2А стресс вызывал существенные изменения: сдвиг акрофазы влево на 1,7 мин, возрастание  $A$  (на 39,0 %) и снижение  $h$  (на 43,6 %,  $p < 0,05$ ). Введение Pro-Gly препятствовало возникновению статистически значимых 24-мин ритмов ГДА, при этом  $A$  была смещена в сторону условной «нормы»,  $\varphi$  и  $h$  не претерпели изменений.

**Влияние Pro-Gly (0,5 мг/кг, в/б), МК-801 (0,05 мг/кг, в/б) и их комбинации на параметры статистически значимых 6-, 12- и 24-минутных ритмов**

| Соединение                   | $h$ , усл. ед. ( $X \pm Sx$ ) | $A$ , усл. ед. | $\varphi$ , мин | $P$        |
|------------------------------|-------------------------------|----------------|-----------------|------------|
| 6-минутные ритмы             |                               |                |                 |            |
| Контроль-1 ( $N = 12$ )      | 247,4 ± 10,8                  | 12,9           | 2,6             | $p = 0,05$ |
| Р + МК-801 ( $N = 4$ )       | 143,1 ± 16,9 <sup>#</sup>     | 14,2           | 3,1             | $p = 0,05$ |
| 12-минутные ритмы            |                               |                |                 |            |
| Контроль-1 ( $N = 12$ )      | 247,5 ± 10,7                  | 21,9           | 3,9             | $p < 0,05$ |
| Pro-Gly + МК-801 ( $N = 4$ ) | 189,9 ± 45,9                  | 34,5           | 3,4             | $p < 0,05$ |
| 24-минутные ритмы            |                               |                |                 |            |
| Контроль-1 ( $N = 12$ )      | 247,9 ± 10,8                  | 30,8           | 5,9             | $p < 0,05$ |
| Контроль-2А ( $N = 4$ )      | 139,8 ± 14,5 <sup>#</sup>     | 42,8           | 4,2             | $p < 0,05$ |
| Pro-Gly + МК-801 ( $N = 4$ ) | 190,5 ± 46,2                  | 44,3           | 4,7             | $p < 0,05$ |
| Р + МК-801 ( $N = 4$ )       | 144,6 ± 16,6 <sup>#</sup>     | 49,8           | 4,9             | $p < 0,05$ |

Примечание – 1. Результаты сравнения в группах К-1 (контроль-1, интактный), К-2А, МК-801, Pro-Gly, Pro-Gly + МК-801.  $N$  – число групповых высадок; количество особей в группе – 10. Особи групп К-2А, МК-801; Pro-Gly; Pro-Gly + МК-801 подверглись зоосоциальному и «инъекционному» стрессу; 2. Различия с интактным контролем статистически значимы,  $p < 0,05$ , критерий Крускала-Уоллиса с апостериорным анализом по критерию Данна, использованы данные в группах К-1; К-2А; МК-801; Pro-Gly; Pro-Gly + МК-801 для каждой из гармоник.

В экспериментах с введением МК-801 показано следующее. Выявлены УР ГДА с 6-мин гармоникой (К-1,  $p = 0,05$  и МК-801,  $p = 0,05$ ), с 12-мин гармоникой (К-1 –  $p < 0,05$  и Pro-Gly + МК-801,  $p < 0,05$ ) и с 24 мин гармоникой (К-1,  $p < 0,05$ ; К-2А,  $p < 0,05$ ; МК-801,  $p < 0,05$ ; Pro-Gly + МК-801,  $p < 0,05$ ). Назначение Pro-Gly вело к возникновению статистически значимых 12-мин ритмов при введении с МК-801, а по отдельности ни дипептид, ни МК-801 не способствовали формированию таковых – см. таблицу. На фоне совместного введения Pro-Gly + МК-801 различия  $h$  24-мин ритмов с К-1 были незначительными (снижение  $h$  на 23,2 %,  $p > 0,05$ ), тогда как назначение МК-801 без дипептида вело к статистически достоверному снижению  $h$  в сравнении с таковым в К-1 (на 41,7 %,  $p < 0,05$ ). Известно, что МК-801 обладает анксиолитическим действием, что проявляется в повышении мезора 24-мин ритмов относительно  $h$  в К-2А ( $144,6 \pm 16,6$  усл. ед. против  $139,8 \pm 14,5$  усл. ед.), однако различия с интактным контролем этого показателя на фоне МК-801 еще сохраняли статистическую значимость. Возрастание  $h$  в группе Pro-Gly + МК-801 до  $190,5 \pm 46,2$  усл. ед. и отсутствие существенных различий с К-1 (предотвращение последствий стресса) позволяет предположить усиление пролил-глицином анксиолитического эффекта МК-801 при их совместном введении, а также – усиление дипептидом хронотропного действия дизоцилпина в отношении 12- и 24-мин ритмов ГДА.

По результатам cosinor-анализа Pro-Leu ослаблял эффекты МК-801. Это подтверждается отсутствием статистически значимых 24-мин ритмов не только на фоне Pro-Leu, но и в случае совместного назначения Pro-Leu с МК-801, в то время как при введении МК-801 выявлены достоверные УР с 24-мин гармоникой,  $p < 0,05$  (таблица).

В структуре УР особей К-1 преобладали ритмы с гармоникой  $\leq 6$  мин (в 50 % случаев), а доли УР с гармониками 7–18 мин и 19–30 мин составили 25 % и 25 % соответственно. В К-2 соотношение количества групповых высадок с преобладанием коротко-, средне- и длиннопериодных ритмов было 0 % : 71,4 % : 28,6 %, различия с К-1 по количеству групп с ритмами  $\leq 6$  мин были значимы ( $p < 0,05$ , точный критерий Фишера). Введение Pro-Gly препятствовало стресс-индуцированному десинхронозу, структура ритмов соответствовала К-1: 50 % : 25 % : 25 %. У грызунов, получавших только МК-801 или МК-801 + Pro-Gly, соответствующее соотношение составляло 0 % : 0 % : 100 %, различия с К-2 не были достоверными. В группах мышей, которым назначали Pro-Leu и МК-801 + Pro-Leu, соответствующие соотношения были равны 33,3 % : 0 % : 66,7 % и 25 % : 75 % : 0 %. Выявлены статистически значимые различия количества групповых высадок с УР с гармониками 19–30 мин на фоне МК-801 (100 % или 4 из 4 высадок) с таковым при введении МК-801 + Pro-Leu (0 % или 0 из 4 высадок),  $p < 0,05$ , точный критерий Фишера – следовательно, Pro-Leu препятствовал реализации хронотропных эффектов МК-801.

**Заключение.** В задачи исследования входила оценка хронотропных свойств пролинсодержащих дипептидов. С целью изучения нейротрансмиттерных механизмов действия Pro-Leu и Pro-Gly был использован МК-801. В группе К-1 присутствовали коротко-, средне- и длиннопериодные УР. Стресс у грызунов К-2 вызывал обеднение спектра ритмов – способствовал уменьшению доли короткопериодных УР. Pro-Gly восстанавливал структуру УР. При совместном введении Pro-Gly усиливал, а Pro-Leu ослаблял эффекты МК-801. Полученные данные указывают на наличие хронотропного действия у Pro-Gly и Pro-Leu в условиях групповых взаимодействий и возможных глутаматергических и/или дофаминергических механизмов их хронофармакологического действия.

#### Литература

1. Kim, J. H. Circadian Rhythm Sleep-Wake Disorders in Older Adults / J. H. Kim, A. R. Elkhadem, J. F. Duffy // Sleep Med. Clin. – 2022. – Vol. 17 (2). – P. 241–252. <https://doi.org/10.1016/j.jsmc.2022.02.003>
2. Circadian Rhythms, Sleep, Immunity, and Fragility in the Elderly: The Model of the Susceptibility to Infections / S. Garbarino [et al.] // Front. Neurol. – 2020. – Vol. 11. – 558417. <https://doi.org/10.3389/fneur.2020.558417>
3. Bourguignon, C. Control of Rest:Activity by a Dopaminergic Ultradian Oscillator and the Circadian Clock / C. Bourguignon, K. F. Storch // Front. Neurol. – 2017. – Vol. 27 (8). – P. 614. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00614>
4. Choi, H. Impact of social isolation on behavioral health in elderly: Systematic review / H. Choi, M. R. Irwin, H. J. Cho // World J. Psychiatry. – 2015. – Vol. 5 (4). – P. 432–428. <https://doi.org/10.5498/wjp.v5.i4.432>
5. МК-801-induced behavioral and dopaminergic responses in the shell part of the nucleus accumbens in adult male rats are disrupted after neonatal blockade of the ventral subiculum / H. Saoud [et al.] // Neurochem. Int. – 2021. – Vol. 150. – 105195. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2021.105195>

## EFFECT OF PRO-GLY AND PRO-LEU DIPEPTIDES ON ULTRADIAN RHYTHMS OF THE YEAR AND MODIFICATION OF MK-801 BIORHYTHMS IN SUBMISSIVE ICR MICE UNDER GROUP ACTIMETRY

E. V. Kravchenko<sup>1</sup>, O. N. Savanets<sup>1</sup>, L. M. Olgomets<sup>1</sup>, N. A. Bizunok<sup>2</sup>, R. D. Zilberman<sup>1</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*

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

**Abstract.** Synchronization of biorhythms in order to increase the efficiency of activities is relevant both in emergency situations, and in working conditions, social contacts in the absence of an immediate threat to human health. The search for compounds with chronotropic properties that would prevent the mismatch of ultradian rhythms (SD) in conditions of social interactions is relevant. The objectives of the study were to evaluate the possible chronotropic properties of proline-containing dipeptides. MK-801 (disocylpin) was used to study the neurotransmitter mechanisms of action of Pro-Leu and Pro-Gly. 380 outbred male ICR mice (submissive individuals) were included in the experiments. The number of animals at each group landing was 10 individuals per group. The K-1 individuals were exposed only to the stress of "novelty" associated with unfamiliar conditions in the aktimeter chamber. Mice of groups K-2 and main groups 1–5 were exposed to both "novelty" stress, as well as zoosocial stress associated with the formation of a new population, as well as "injection" stress. Animals of the main groups received Pro-Gly; either Pro-Gly + MK-801, or Pro-Leu, or Pro-Leu + MK-801, or MK-801. The K-1 group had short-period activity rhythms, medium-duration rhythms, and long-period rhythms. Stress in rodents of the K-2 group caused a depletion of the spectrum of rhythms - it contributed to a decrease in the proportion of short-period rhythms of locomotor activity. Pro-Gly restored the UR structure. When co-administered, Pro-Gly enhanced and Pro-Leu weakened the effects of MK-801.

**Keywords:** Pro-Gly, Pro-Leu, MK-801, ultradian rhythms, mice

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ  
ИНСТИТУТ РАДИОБИОЛОГИИ  
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS  
INSTITUTE OF RADIOBIOLOGY**

**РАДИОБИОЛОГИЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ  
БЕЗОПАСНОСТЬ – 2025**

**Материалы международной научной конференции  
(29–30 мая 2025, Гомель)**

**RADIOBIOLOGY AND ENVIRONMENTAL  
SAFETY – 2025**

**Proceedings of the International Scientific Conference  
(29–30 May 2025, Gomel)**

Минск  
"ИВЦ Минфина"  
2025