

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)
УДК 615.015.1:599.323.4
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-3-256-264>

Поступила в редакцию 10.02.2023
Received 10.02.2023

Е. В. Кравченко¹, Л. М. Ольгомец¹, О. Н. Саванец¹, К. В. Бородина¹, Е. С. Пустюльга¹,
В. П. Голубович¹, Р. Д. Зильберман¹, Н. А. Бизунок², Б. В. Дубовик²

¹Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь
²Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Республика Беларусь

ВЛИЯНИЕ ПРОЛИНСОДЕРЖАЩИХ ОЛИГОПЕПТИДОВ НА ПОВЕДЕНИЕ АУТБРЕДНЫХ МЫШЕЙ ICR В ТЕСТЕ FORCED SWIM

Аннотация. С помощью теста принудительного плавания (Forced Swim Test) изучено влияние пролинсодержащих олигопептидов N-Ас-DСер-Pro-DАрг-Gly-NH₂ (B-4), N-Ас-Trp-Pro-Арг-Gly-NH₂ (B-5), N-Ас-Tyr-Pro-Арг-Gly-NH₂ (B-7) и Pro-Gly на показатели поведения мышей-самцов ICR. Установлено, что N-Ас-DСер-Pro-DАрг-Gly-NH₂ (1,0 мг/кг) увеличивает интенсивность активного плавания, наиболее выражено – в последние 2 мин тестирования (период максимального утомления), т. е. препятствует «поведению отчаяния».

Ключевые слова: N-Ас-DСер-Pro-DАрг-Gly-NH₂, N-Ас-Trp-Pro-Арг-Gly-NH₂, Pro-Gly, тест принудительного плавания, мыши

Для цитирования: Влияние пролинсодержащих олигопептидов на поведение аутбредных мышей ICR в тесте Forced Swim // Вест. Нац. акад. наук Беларуси. Сер. мед. наук. – 2023. – Т. 20, № 3. – С. 256–264. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-3-256-264>

Elena V. Kravchenko¹, Lyubov M. Olgomets¹, Oksana N. Savanets¹, Kseniya V. Borodina¹, Egor S. Pustylga¹,
Vladimir P. Golubovich¹, Roman D. Zilberman¹, Natalia A. Bizunok², Boris V. Dubovik²

¹Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus
²Belarusian State Medical University, Minsk, Republic of Belarus

EFFECT OF PROLINE-CONTAINING OLIGOPEPTIDES ON THE BEHAVIOR OF OUTBRED ICR MICE IN THE FORCED SWIM TEST

Abstract. The effect of proline-containing oligopeptides N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂ (B-4), N-Ac-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ (B-5), N-Ac-Tyr-Pro-Arg-Gly-NH₂ (B-7), and Pro-Gly on the behavior of male ICR mice in the Forced Swim Test was studied. N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂ (1.0 mcg/kg, i.n) increased the intensity of active swimming, most pronounced – during the last 2 minutes of testing (maximum fatigue period), i.e., it prevented the behavior of “despair”.

Keywords: N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂, N-Ac-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂, Pro-Gly, Forced Swim Test, mice

For citation: Kravchenko E. V., Olgomets L. M., Savanets O. N., Borodina K. V., Pustylga E. S., Golubovich V. P., Zilberman R. D., Bizunok N. A., Dubovik B. V. Effect of proline-containing oligopeptides on the behavior of outbred ICR mice in the Forced Swim Test. *Vesti Natsyonal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya medytsynskikh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2023, vol. 20, no. 3, pp. 256–264 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2023-20-3-256-264>

Введение. Значимость диагностики, профилактики и терапии когнитивных расстройств (КР) обусловлена широкой распространенностью указанной патологии, высоким социально-экономическим бременем для общества, возможностью достижения существенной экономической и социальной выгоды при своевременном и эффективном лечении. Депрессия относится к числу 12 модифицируемых факторов риска развития КР, в том числе таких, как низкий уровень образования в молодости; снижение слуха, артериальная гипертензия и ожирение в среднем возрасте; курение, гиподинамия, социальная изоляция и сахарный диабет у лиц старше 65 лет; употребление алкоголя; черепно-мозговая травма и загрязнение воздуха. Их нивелирование может способствовать снижению риска деменции в популяции на 40 % [1]. У пациентов пожилого и старческого возраста депрессивный синдром выступает в качестве фактора риска развития деменции [1, 2], продрома [1] или следствия КР [2]. По данным двух систематических обзоров (2017 и 2018 гг.), применение антидепрессантов для лечения депрессии при деменции в сравнении с плацебо не приводит к статистически достоверному улучшению состояния пациентов [1].

Ранее нами было показано, что пролинсодержащие тетрапептиды, синтезированные в лаборатории прикладной биохимии Института биоорганической химии НАН Беларуси, существенно снижают продолжительность иммобилизации крыс-самцов линии Wistar в парадигме «принудительное плавание» – Forced Swim Test (FST) [3]. Фармакологическое действие N-Ас-DСер-Pro-DArg-Gly-NH₂ (в дозе 1,0 мкг/кг) и N-Ас-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ (в дозах 0,1; 1,0; 10,0 мкг/кг) в FST было сходным с эффектом референтного лекарственного средства флуоксетин, что указывало на антидепрессивноподобное влияние указанных пептидов [3].

Несмотря на то что FST не является в полной мере моделью депрессии у человека, в академических исследованиях и при разработке лекарственных средств этот метод рассматривается как важный инструмент, поскольку характеризуется надежностью, высокой пропускной способностью и прогностической достоверностью при скрининге новых соединений.

В тесте FST с использованием крыс можно четко разграничить плавательное поведение (*swimming*) и вскарабкивание (*climbing*), что позволяет различать соединения, влияющие на серотонинергическую и норадренергическую системы соответственно. FST на крысах предполагает два последовательных сеанса – пре-тест и тест [4]. Попадая в воду, животные вначале проявляют бурную двигательную активность, направленную на поиск выхода из авersive стрессорной ситуации, но затем прекращают эти попытки и совершают незначительные движения, необходимые для поддержания головы над поверхностью воды, либо замирают в характерной позе, оставаясь полностью неподвижными (это расценивается как проявление отчаяния, подавленности, депрессивноподобного состояния). Вместе с тем увеличение продолжительности иммобилизации некоторыми авторами рассматривается как переход к экономии ресурсов организма посредством выбора пассивной стратегии поведения [5]. «Выученная иммобильность», обнаруживаемая при повторном помещении крыс в условия FST, может объясняться тем, что стрессорная ситуация уже знакома животному; в этом случае применимы критерии, используемые для описания феномена габитуации [6]: при первом помещении животного в стрессорную ситуацию оно обучается принимать неподвижную позу, а во время повторной экспозиции «вспоминает» иммобильность [7]. «Мышиная» версия теста принудительного плавания дает результаты уже в первые сутки опыта [4], что позволяет исключить получение псевдоположительного эффекта вследствие влияния фактора обучения.

Для подтверждения ранее выявленного антидепрессивноподобного действия пролинсодержащих тетрапептидов В-4 и В-5 и их структурного аналога нами изучена эффективность этих соединений в тесте FST на мышах. Помимо тетрапептидов в исследование был включен дипептид Pro-Gly, структурно родственной циклопролилглицину (ЦПГ). ЦПГ, как и его аналоги (цикло-L-пипеколилглицин (ГЗК-001) и (S)-тетрагидро-2Н-пирроло[1,2-е]имидазол-1,3-дион (ГЗК-002)) в экспериментах на мышах проявлял антидепрессивноподобную активность, сопоставимую с действием флуоксетина [8].

Целью данного исследования являлось изучение влияния пролинсодержащих олигопептидов на поведение мышей в тесте принудительного плавания (Forced Swim Test).

Материалы и методы исследования. Экспериментальные исследования антидепрессивноподобного действия 4 олигопептидов проведены на 98 аутобредных мышцах-самцах ICR. Фармакологическую активность пролинсодержащих олигопептидов изучали в опытах на животных, содержащихся в стандартных условиях вивария со свободным доступом к пище и воде в соответствии с требованиями Санитарных правил и норм 2.1.2.12-18-2006. После доставки из сектора биоиспытаний мышей метили водостойким маркером.

Соединения N-Ас-DСер-Pro-DArg-Gly-NH₂ (В-4), N-Ас-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-5) и N-Ас-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-7) были синтезированы в лаборатории прикладной биохимии Института биоорганической химии НАН Беларуси. В-4 и В-5 применяли интраназально (и/н) в дозах 0,1; 1,0 и 10,0 мкг/кг; В-7 – и/н в дозе 1,0 мкг/кг. Дипептид Pro-Gly (P0880, сер. номер ВCBV9787, Sigma Aldrich, США) вводили внутривентрикулярно (в/в) в дозах 0,1 и 0,5 мг/кг. Тетрапептиды применяли в объеме 1 мкл/10 г массы тела, дипептид – в объеме 0,1 мл/10 г массы тела; растворитель (дистиллированная вода, ДВ) животным контрольной группы 1 (контроль-1) вводили и/н, животным контрольной группы 2 (контроль-2) – в/в в том же объеме, что и в тестируемых образцах.

Исследования проводили в два этапа.

Этап 1. С целью снижения влияния индивидуальных адаптивно-приспособительных реакций грызунов на результаты исследования проводили экспресс-оценку типологических особенностей мышей. До тестирования в FST выявляли особей с высоким уровнем зоосоциального контактирования (ВУК) с интродером в условиях однократного территориального конфликта в микроколонии по схеме «десять резидентов ICR, один интродер»; к числу особей с ВУК относили грызунов с тремя и более зоосоциальными контактами, включая обнюхивание, аллогрумминг, атаки [9]. Тетрапептиды и дипептид применяли за 20–45 мин до FST. Сведения о формировании групп, способах введения, дозах тестируемых соединений, числе животных в группах сравнения приведены в табл. 1.

Этап 2. Для моделирования «поведения отчаяния» у грызунов использовали парадигму «принудительное плавание» (FST) с использованием установки Kinder Scientific Company LLC Forced Swim Systems, MotorMonitor (Kinder Scientific Company LLC, США). Условия эксперимента соответствовали модифицированному методу Porsolt [4]. При проведении эксперимента продолжительностью 6 мин животное помещали в цилиндр с водой таким образом, чтобы оно не могло ни выбраться из сосуда, ни найти в нем опору в виде касания дна лапками или хвостом. Установка представляла собой цилиндрический бассейн (диаметр сосуда – 10 см, высота – 30 см), уровень воды в котором составлял 20,5 см, на протяжении эксперимента поддерживалась температура 23–25 °С [4].

Таблица 1. Схема исследования олигопептидов в Forced Swim Test (FST) с использованием мышей ICR
Table 1. Schematic of oligopeptide studies in the Forced Swim Test (FST) using ICR mice

Группа	Доза	Путь введения	Этап 1.		Этап 2. FST/ <i>n</i>
			Типирование/ <i>n</i> в субпопуляции		
			Активные (ВУК)	Пассивные	
Контроль-1 (ДВ)	–	и/н	6 (86 %)	1 (14 %)	7
Контроль-2 (ДВ)	–	в/б	17 (85 %)	3 (15 %)	20
В-4	0,1 мкг/кг	и/н	6 (86 %)	1 (14 %)	7
	1,0 мкг/кг		6 (86 %)	1 (14 %)	7
	10,0 мкг/кг		3 (50 %)	3 (50 %)	6
В-5	0,1 мкг/кг	и/н	3 (37,5 %)	5 (62,5 %)	8
	1,0 мкг/кг		5 (62,5 %)	3 (37,5 %)	8
	10,0 мкг/кг		6 (75 %)	2 (25 %)	8
В-7	1,0 мкг/кг	и/н	5 (71 %)	2 (29 %)	7
Pro-Gly	0,1 мг/кг	в/б	9 (90 %)	1 (10 %)	10
	0,5 мг/кг		9 (90 %)	1 (10 %)	10

Примечание. Здесь и в остальных таблицах: ДВ – дистиллированная вода; *n* – число животных в группе; ВУК – три и более зоосоциальных контакта у особей.

В ходе эксперимента автоматически регистрировались следующие показатели: а) активное плавание с измерением показателя *Basic movements*, выражаемого в условных единицах (мышь совершает энергичные движения всеми лапами, активно перемещаясь внутри емкости по горизонтали – «борьба, барахтанье»); б) мелкие движения (*Fine movements*) (усл. ед.) – «пассивное плавание», животное совершает движения головой либо слабые гребки лапками для поддержания тела на плаву (без смещения центра туловища); в) латентный период (ЛП) первого акта иммобилизации (полное отсутствие плавательных движений на протяжении не менее 2 с подряд) при регистрации в период с 1-й по 6-ю минуту (секунду) или ЛП иммобилизации за последние 4 мин (с) наблюдения; г) продолжительность иммобилизации (с).

Продолжительность «мышинной» версии FST составляет 6 мин; для оценки антидепрессивноподобного действия анализируются только последние 4 мин теста [4]. Это связано с тем, что

большинство мышей очень подвижны в первые 2 мин FST, и потенциальные эффекты терапии могут «маскироваться» энергичной двигательной реакцией, направленной на поиск выхода из аверсивной ситуации.

Анализ данных проводили с использованием общепринятых статистических методов, статистическую обработку цифровых показателей – с помощью программного обеспечения Origin 6.1 (Origin Lab Corporation, США, 2000), Biostat 4.03 (Glantz S.A., 1998). Для сравнения двух независимых выборок применяли критерий Манна–Уитни, для сравнения зависимых – критерий Уилкоксона. При наличии трех и более групп использовали критерий Крускала–Уоллиса, а также ранговый дисперсионный анализ Фридмана для зависимых выборок с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Ньюмена–Кейлса. Для анализа качественных признаков применяли точный критерий Фишера. Данные представляли в виде $X \pm S_x$.

Результаты и их обсуждение. Статистически значимых различий между особями с различными фенотипами поведения не выявлено; как правило, большинство грызунов относились к когорте ВУК (три и более зоосоциальных контакта) (табл. 1). После первоначальных интенсивных попыток избегания стрессорирующей ситуации мыши прекращали «борьбу», отмечалось пассивное плавание или иммобилизация. Существенные межгрупповые различия по показателям «активное плавание», «пассивное плавание», «ЛП первой иммобилизации» при анализе поведения животных за 6 мин, а также по показателям «ЛП иммобилизации» и «продолжительность иммобилизации» с 3-й по 6-ю минуту не выявлены (табл. 2, 3).

При введении В-4 (N-Ас-DСер-Pro-DArg-Gly-NH₂; 0,1 и 1,0 мкг/кг) имела место тенденция к возрастанию подвижности грызунов, в меньшей степени она проявлялась при введении В-5 (в тех же дозах) и В-7 (1,0 мкг/кг) (табл. 2, 4, 5). При введении В-4 (но не В-5 и В-7) в вышеназванных дозах отмечалось запаздывание принятия неподвижной позы (на 16,0–22,3 % относительно контроля-1) и отчетливое сокращение продолжительности иммобилизации (на 29,6–30,4 % относительно контроля-1) (табл. 3). Поскольку у мышей контрольных групп 1 ($n = 7$) и 2 ($n = 20$) уровни стрессогенности процедуры введения в условиях и/н и в/б введения были сопоставимы, а продолжительность иммобилизации существенно не отличалась ($74,3 \pm 9,5$ и $69,8 \pm 8,7$ с соответственно (табл. 3)), мы сочли возможным сопоставить значения показателя «число мышей с продолжительностью иммобилизации менее 30 с» для объединенного контроля ($n = 27$) и испытуемых образцов. Выявлены достоверные различия при сравнении В-4 (1,0 мкг/кг) и объединенного контроля (точный критерий Фишера, $p = 0,003$).

Т а б л и ц а 2. Влияние однократного введения пролинсодержащих тетрапептидов (и/н) и дипептида (в/б) на поведение мышей ICR в FST за 6 мин наблюдения

Table 2. Effect of a single administration of proline-containing tetrapeptides (intranasally – i. n.) and dipeptide (intraperitoneally – i. p.) on the behavior of ICR mice in the FST for 6 observation minutes

Группа	Доза	Число животных	Активное плавание		Пассивное плавание		ЛП первой иммобилизации	
			усл. ед.	в % к контролю	усл. ед.	в % к контролю	с	в % к контролю
Контроль-1 (ДВ)		7	377,9 ± 22,6	100	77,0 ± 4,7	100	71,9 ± 21,3	100
В-4	0,1 мкг/кг	7	445,1 ± 53,7	117,8	106,3 ± 9,9	138,1	116,7 ± 27,3	162,3
	1,0 мкг/кг	7	462,4 ± 50,8	122,4	93,6 ± 5,7	121,6	83,3 ± 10,4	115,9
	10,0 мкг/кг	6	385,0 ± 77,7	101,9	82,5 ± 11,1	107,1	72,0 ± 19,8	100,1
В-5	0,1 мкг/кг	8	391,6 ± 51,5	103,6	88,9 ± 10,8	115,5	86,3 ± 16,2	120,0
	1,0 мкг/кг	8	446,1 ± 38,2	118,0	79,4 ± 5,3	103,1	69,0 ± 13,5	96,0
	10,0 мкг/кг	8	406,6 ± 39,2	107,6	72,0 ± 7,7	93,5	77,8 ± 21,6	108,2
В-7	1,0 мкг/кг	7	402,7 ± 48,5	106,6	75,7 ± 10,6	98,3	70,4 ± 19,8	97,9
Контроль-2 (ДВ)		20	410,1 ± 21,4	100	87,3 ± 7,0	100	98,1 ± 13,0	100
Pro-Gly	0,1 мг/кг	10	382,1 ± 36,1	93,2	85,3 ± 5,9	97,7	58,8 ± 8,8	59,9
	0,5 мг/кг	10	348,9 ± 33,4	85,1	79,0 ± 7,1	90,5	60,0 ± 12,0	61,2

Т а б л и ц а 3. Влияние однократного введения пролинсодержащих тетрапептидов (и/н) и дипептида (в/б) на поведение мышей ICR в FST (за период с 3-й по 6-ю минуту)

Table 3. Effect of a single administration of proline-containing tetrapeptides (i.n.) and dipeptide (i. p.) on the behavior of ICR mice in the FST (for a period of 3 to 6 minutes)

Группа	Доза	Число животных	ЛП иммобилизации		Продолжительность иммобилизации		Число мышей с продолжительностью иммобилизации менее 30 с
			с	в % к контролю	с	в % к контролю	
Контроль-1 (ДВ)		7	136,1 ± 7,5	100	74,3 ± 9,5	100	0 (0,0 %)
В-4	0,1 мкг/кг	7	157,9 ± 15,5	116,0	52,3 ± 13,7	70,4	2 (28,6 %)
	1,0 мкг/кг	7	166,4 ± 31,0	122,3	51,7 ± 18,3	69,6	4 (57,1 %)
	10,0 мкг/кг	6	151,7 ± 13,3	111,5	75,7 ± 31,2	101,9	2 (33,3 %)
В-5	0,1 мкг/кг	8	133,0 ± 3,9	97,7	73,3 ± 18,7	98,7	2 (25,0 %)
	1,0 мкг/кг	8	133,8 ± 8,0	98,3	62,5 ± 8,8	84,1	1 (12,5 %)
	10,0 мкг/кг	8	136,0 ± 5,8	99,9	64,5 ± 12,1	86,8	1 (12,5 %)
В-7	1,0 мкг/кг	7	139,3 ± 6,2	102,4	71,1 ± 16,8	95,7	1 (14,3 %)
Контроль-2 (ДВ)		20	144,5 ± 8,0	100	69,8 ± 8,7	100	1 (5,0 %)
Pro-Gly	0,1 мг/кг	10	134,0 ± 6,3	92,7	83,6 ± 12,2	119,8	1 (10,0 %)
	0,5 мг/кг	10	128,6 ± 2,9	89,0	88,2 ± 13,1	126,4	0 (0,0 %)

В-4, введенный в дозе 1,0 мкг/кг (но не 0,1 и 10,0 мкг/кг), статистически достоверно усиливал в сравнении с контролем-1 интенсивность активного плавания мышей ICR на 5-й минуте наблюдения, что хорошо согласуется с ранее полученными нами данными в экспериментах на крысах линии Wistar [3] (см. табл. 4). Тенденция к повышению *Basic movements* отмечалась при введении В-4 в дозах 0,1 и 1,0 мкг/кг на 3, 4, 5 и 6-й минутах, а также с 3-й по 6-ю минуту (табл. 4).

В-4 (0,1 мкг/кг) вызывал статистически значимую стимуляцию пассивного плавания (*Fine movements*) в сравнении с контролем-1 за период с 3-й по 6-ю минуту ($p < 0,05$) (табл. 5). Тенденция к увеличению интенсивности пассивного плавания относительно уровня контроля-1 отмечена для В-4, вводимого в дозах 0,1 и 1,0 мкг/кг на 3, 4, 5 и 6-й минутах наблюдения, а в период с 3-й по 6-ю минуту – в дозе 1,0 мкг/кг (табл. 5). Влияние В-5 на указанный показатель было дозозависимым: незначительное усиление пассивного плавания в сравнении с контролем-1 или отсутствие эффекта отмечено после его применения в дозах 0,1 и 1,0 мкг/кг, снижение на 5-й минуте в сравнении с 3-й минутой наблюдения – при введении в дозе 10,0 мкг/кг. Pro-Gly (0,1 и 0,5 мг/кг) несущественно ослаблял подвижность мышей в FST в сравнении с контролем-2 (см. табл. 2–5). В отличие от животных группы контроль-2, характеризующихся снижением числа мелких движений к концу наблюдения, у особей, получавших Pro-Gly в обеих дозах, существенного уменьшения *Fine movements* не выявлено, их поведение было более стабильным, нежели у грызунов, получавших растворитель (табл. 5).

Таким образом, в проведенном исследовании на мышцах ICR в FST подтвержден антидепрессивноподобный эффект В-4, выявленный ранее в экспериментах с использованием крыс [3]. Дополнительным преимуществом В-4 является его хронотропное действие в отношении ультрадианных ритмов крыс линии Wistar, подвергшихся принудительному плаванию [10], и циркадных ритмов мышей ICR на фоне процедуры FST [11], а также облегчение неассоциативного обучения (габитуации) у стрессированных особей Wistar с пассивным фенотипом поведения [12], неустойчивых к действию стресса [13]. Следовательно, именно В-4 целесообразно взять за основу в качестве перспективного пролинсодержащего олигопептида для профилактики когнитивных расстройств.

В экспериментах на мышцах корректорное действие В-5 (1,0 мкг/кг), выразившееся в снижении продолжительности иммобилизации и усилении *Basic movements* грызунов в FST, не достигало уровня статистической значимости, что можно объяснить межвидовыми различиями в чувствительности к указанному тетрапептиду. Отсутствие ожидаемого эффекта у Pro-Gly может быть связано с использованием иной, нежели в цитируемой нами научной литературе, линии мышей (Balb/c [8], а не ICR), а также другого режима введения (не двухнедельное [8], а однократное применение).

Таблица 4. Влияние однократного введения пролинсодержащих тетрапептидов (и/н) и дипептида (в/б) на активное плавание (*Basic movements*) мышей ICR в FST (с 3-й по 6-ю минуту)Table 4. Effect of a single administration of proline-containing tetrapeptides (i.n.) and dipeptide (i. p.) on the active swimming (*Basic movements*) of ICR mice in the FST (for a period of 3 to 6 minutes)

Группа	Доза	Число животных	Активное плавание (усл. ед./мин регистрации (в % к контролю))				
			3-я минута	4-я минута	5-я минута	6-я минута	с 3-й по 6-ю минуту
Контроль-1 (ДВ)		7	54,1 ± 7,1 (100)	44,3 ± 6,9 (100)	43,1 ± 7,2 (100)	43,0 ± 5,5 (100)	184,6 ± 17,1 (100)
В-4	0,1 мкг/кг	7	67,3 ± 12,6 (124,4)	62,0 ± 10,0 (140,0)	53,9 ± 8,3 (125,1)	45,0 ± 7,5 ⁰ (104,7)	228,1 ± 35,9 (123,6)
	1,0 мкг/кг	7	58,9 ± 15,4 (108,9)	63,3 ± 12,4 (142,9)	78,4 ± 12,1 [*] (181,9)	62,6 ± 11,3 (145,6)	263,1 ± 38,4 (142,5)
	10,0 мкг/кг	6	59,3 ± 15,0 (109,6)	49,2 ± 13,7 (111,1)	51,7 ± 14,6 (120,0)	39,7 ± 11,2 ⁰ (92,3)	199,8 ± 53,2 (108,2)
В-5	0,1 мкг/кг	8	51,8 ± 10,6 (95,7)	54,8 ± 10,1 (123,7)	48,6 ± 8,5 (112,8)	46,6 ± 9,1 (108,4)	201,8 ± 35,6 (109,3)
	1,0 мкг/кг	8	59,5 ± 10,0 (110,0)	44,5 ± 3,8 (100,5)	69,8 ± 8,7 (161,9)	56,4 ± 6 (131,2)	230,1 ± 17,8 (124,6)
	10,0 мкг/кг	8	58,1 ± 8,6 (107,4)	55,1 ± 10,3 (124,4)	44,9 ± 11,7 (104,2)	47,0 ± 4,7 (109,3)	205,1 ± 25,9 (111,1)
В-7	1,0 мкг/кг	7	57,0 ± 11,5 (105,4)	49,0 ± 12,1 (110,6)	54,4 ± 9,2 (126,2)	48,0 ± 8,87 (111,6)	208,4 ± 40,1 (112,9)
Контроль-2 (ДВ)		20	63,9 ± 5,6 (100)	54,3 ± 4,8 (100)	46,0 ± 4,4 [@] (100)	40,4 ± 3,9 ^{@ #} (100)	204,6 ± 15,6 (100)
Pro-Gly	0,1 мг/кг	10	46,3 ± 10,2 (72,5)	51,5 ± 7,9 (94,8)	49,1 ± 7,4 (106,7)	47,0 ± 10,2 (116,3)	193,9 ± 27,1 (94,8)
	0,5 мг/кг	10	47,8 ± 8,1 (74,8)	42,9 ± 6,2 (79,0)	36,5 ± 5,2 (79,3)	35,5 ± 5,6 (87,9)	162,7 ± 22,3 (79,5)

Примечание. Различия статистически значимы по сравнению: * – с контролем-1, $p < 0,05$, критерий Крускала–Уоллиса (анализ двух групп: В-4, 1,0 мкг/кг; контроль-1); 0 – со значениями показателя на 3-й минуте наблюдения, $p < 0,05$, критерий Уилкоксона; @ – со значениями показателя на 3-й минуте наблюдения, # – то же на 4-й минуте наблюдения, критерий Фридмана с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Ньюмена–Кейлса.

Таблица 5. Влияние однократного введения пролинсодержащих тетрапептидов (и/н) и дипептида (в/б) на пассивное плавание (*Fine movements*) мышей ICR в FST (с 3-й по 6-ю минуту)Table 5. Effect of a single administration of proline-containing tetrapeptides (i.n.) and dipeptide (i. p.) on the passive swimming (*Fine movements*) of ICR mice in the FST (for a period of 3 to 6 minutes)

Группа	Доза	Число животных	Пассивное плавание (усл. ед./мин регистрации (в % к контролю))				
			3-я минута	4-я минута	5-я минута	6-я минута	с 3-й по 6-ю минуту
Контроль-1 (ДВ)		7	13,1 ± 1,7 (100)	11,3 ± 1,6 (100)	11,3 ± 2,3 (100)	11,4 ± 1,3 (100)	47,1 ± 4,7 (100)
В-4	0,1 мкг/кг	7	17,3 ± 2,0 (132,1)	16,1 ± 1,8 (142,5)	18,1 ± 1,5 (160,2)	14,0 ± 2,5 (122,8)	65,6 ± 5,6 [*] (139,3)
	1,0 мкг/кг	7	13,9 ± 2,6 (106,1)	16,7 ± 3,4 (147,8)	18,1 ± 1,5 (160,2)	16,0 ± 1,9 (140,4)	62,4 ± 4,7 (132,5)
	10,0 мкг/кг	6	13,5 ± 2,6 (103,1)	11,3 ± 2,4 (100)	14,3 ± 3,3 (126,5)	10,3 ± 1,9 (90,4)	49,5 ± 8,9 (105,1)
В-5	0,1 мкг/кг	8	13,1 ± 1,8 (100)	15,0 ± 3,4 (132,7)	15,8 ± 3,0 (139,8)	12,1 ± 2,3 (106,1)	56,0 ± 9,0 (118,9)

Группа	Доза	Число животных	Пассивное плавание (усл. ед./мин регистрации (в % к контролю))				
			3-я минута	4-я минута	5-я минута	6-я минута	с 3-й по 6-ю минуту
	1,0 мкг/кг	8	12,9 ± 1,5 (98,5)	11,5 ± 1,1 (101,8)	11,9 ± 1,3 (105,3)	13,8 ± 1,9 (121,1)	50,0 ± 3,6 (106,2)
	10,0 мкг/кг	8	15,9 ± 2,6 (121,4)	12,4 ± 1,9 (109,7)	8,0 ± 1,2 [#] (70,8)	10,6 ± 1,4 (93,0)	46,9 ± 6,0 (99,6)
B-7	1,0 мкг/кг	7	10,6 ± 2,0 (80,9)	12,6 ± 2,1 (111,5)	13,6 ± 2,7 (120,4)	11,3 ± 2,2 (99,1)	48,0 ± 8,2 (101,9)
Контроль-2 (ДВ)		20	14,1 ± 1,2 [@] (100)	13,4 ± 1,5 [@] (100)	12,8 ± 2,0 [@] (100)	9,9 ± 1,2 (100)	50,2 ± 4,6 (100)
Pro-Gly	0,1 мг/кг	10	11,7 ± 1,4 (83,0)	11,7 ± 1,5 (87,3)	12,4 ± 1,3 (96,9)	10,7 ± 1,6 (108,1)	46,5 ± 3,8 (92,6)
	0,5 мг/кг	10	14,1 ± 2,6 (100)	12,0 ± 1,4 (89,6)	11,5 ± 2,0 (89,8)	10,7 ± 1,1 (108,1)	48,3 ± 5,2 (96,2)

Примечание. Различия статистически значимы по сравнению: * – с контролем-1, $p < 0,05$, критерий Крускала–Уоллиса с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Данна (анализ только трех групп: B-4, 1,0 мкг/кг; B-4, 0,1 мкг/кг; контроль), # – со значениями показателя на 3-й минуте наблюдения, @ – то же на 6-й минуте, критерий Фридмана с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Ньюмена–Кейлса.

Заключение. В ходе изучения влияния 4 пролинсодержащих олигопептидов на показатели поведения мышей самцов ICR в тесте принудительного плавания (FST) установлено, что наиболее выраженным эффектом характеризовался B-4 (N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂; 1,0 мкг/кг, и/н), способствующий сокращению продолжительности иммобилизации на 30,4 % относительно контроля-1 и статистически значимому усилению интенсивности активного плавания.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Dementia prevention, intervention, and care / G. Livingston [et al.] // 2020 report of the Lancet Commission. Lancet. – 2020. – Vol. 396, N 10248. – P. 413–446. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30367-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30367-6)
2. Strategies for dementia prevention: latest evidence and implications / G. Rakesh [et al.] // Ther. Adv. Chronic Dis. – 2017. – Vol. 8, N 8–9. – P. 121–136. <https://doi.org/10.1177/2040622317712442>
3. Синтез и исследование антидепрессивных свойств новых аналогов аргинин-вазопрессина / К. В. Бородина // Биоорг. химия. – 2022. – Т. 48, № 3. – С. 357–370.
4. The Mouse Forced Swim Test / A. Can [et al.] // J. Vis. Exp. – 2012. – Vol. 59. – P. e3638. <https://doi.org/10.3791/3638>
5. Molendijk, M. L. Immobility in the forced swim test is adaptive and does not reflect depression / M. L. Molendijk, E. R. de Kloet // Psychoneuroendocrinology. – 2015. – Vol. 62. – P. 389–391. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.08.028>
6. Learned immobility is also involved in the forced swimming test in mice / A. Parra [et al.] // Psicothema. – 1999. – Vol. 11, N 2. – P. 239–246.
7. Learned immobility explains the behavior of rats in the forced swimming test / J. M. de Pablo [et al.] // Physiol. Behav. – 1989. – Vol. 46, N 2. – P. 229–237. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(89\)90261-8](https://doi.org/10.1016/0031-9384(89)90261-8)
8. Антидепрессивноподобная активность аналогов циклопролилглицина и участие серотониновых, глутаматных и ГАМК-рецепторов в механизме ее реализации / А. А. Абдулина [и др.] // Эксперим. и клин. фармакология. – 2019. – Т. 82, № 6. – С. 8–15.
9. Кравченко, Е. В. Особенности габитуации исследовательско-ориентировочной активности у мышей с различным типом зоосоциального контактирования и влияние на нее лейцил-пролина гидрохлорида / Е. В. Кравченко, В. М. Насек, И. В. Жебракова // Новости мед.-биол. наук. – 2019. – № 2. – С. 24–28.
10. Влияние синтетических аналогов фрагмента аргинин-вазопрессина на ультрадианные ритмы активности крыс / О. Н. Саванец [и др.] // Молодежь в науке – 2021 : тез. докл. XVIII Междунар. науч. конф. молодых ученых, Минск, 27–30 сент. 2021 г. : в 2 ч. / Нац. акад. наук Беларуси, Совет молодых ученых ; редкол. : В. Г. Гусаков (гл. ред.) [и др.]. – Минск, 2021. – Ч. 2. – С. 70–72.
11. Исследование хронотропных свойств новых аналогов аргинин-вазопрессина / О. Н. Саванец [и др.] // БГМУ в авангарде медицинской науки и практики : рецензир. ежегод. сб. науч. тр. : в 2 т. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т ; редкол. : С. П. Рубникович, В. А. Филонюк. – Минск, 2022. – Т. 2, вып. 12 : Фундаментальная наука – медицине. Фармация. – С. 205–210.

12. N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂ усиливает способность к габикуации вертикальной двигательной активности у крыс Wistar с пассивной стратегией поведения / А. А. Пиллюккая [и др.] // *Фундаментальная наука в современной медицине – 2022* : сб. материалов науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых / Бел. гос. мед. ун-т ; под ред. С. П. Рубникова [и др.]. – Минск : БГМУ, 2022. – С. 217–220.

13. Усиление N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂ процессов имплицитной памяти (габикуация локомоторной активности) у крыс Wistar, неустойчивых к воздействию стресса / Н. А. Бизунок [и др.] // *Актуальные проблемы современной медицины и фармации – 2022* : сб. тез. докл. LXXXVI Междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Минск, 20–21 апр. 2022 г. / Бел. гос. мед. ун-т ; под ред. С. П. Рубникова, В. А. Филонюка. – Минск : БГМУ, 2022. – С. 1197.

References

1. Livingston G., Huntley J., Sommerlad A., Ames D., Ballard C., Banerjee S. [et al.] Dementia prevention, intervention, and care. *2020 report of the Lancet Commission. Lancet*, 2020, vol. 396, no. 10248, pp. 413–446. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30367-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30367-6)

2. Rakesh G., Szabo S. T., Alexopoulos G. S., Zannas A. S. Strategies for dementia prevention: latest evidence and implications. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*, 2017, vol. 8, no. 8–9, pp. 121–136. <https://doi.org/10.1177/2040622317712442>

3. Borodina K. V., Savanets O. N., Pustyl'ga E. S., Martinovich V. P., Kravchenko E. V., Olgomets L. M., Golubovich V. P. Synthesis and investigation of the antidepressant properties of novel analogs of arginine-vasopressin. *Bioorganicheskaya khimiya* [Bioorganic chemistry], 2022, vol. 48, no. 3, pp. 357–370 (in Russian).

4. Can A., Dao D. T., Arad M., Terrillion C. E., Piantadosi S. C., Gould T. D. The Mouse Forced Swim Test. *Journal of Visualized Experiments*, 2012, vol. 59, p. e3638. <https://doi.org/10.3791/3638>

5. Molendijk M. L., de Kloet E. R. Immobility in the forced swim test is adaptive and does not reflect depression. *Psychoneuroendocrinology*, 2015, vol. 62, pp. 389–391. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.08.028>

6. Parra A., Vinader-Caerols C., Monleón S., Simón V. M. Learned immobility is also involved in the forced swimming test in mice. *Psicothema*, 1999, vol. 11, no. 2, pp. 239–246.

7. de Pablo J. M., Parra A., Segovia S., Guillamón A. Learned immobility explains the behavior of rats in the forced swimming test. *Physiology and Behavior*, 1989, vol. 46, no. 2, pp. 229–237. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(89\)90261-8](https://doi.org/10.1016/0031-9384(89)90261-8)

8. Abdullina A. A., Vasil'eva E. V., Kondrakhin E. A., Kolyasnikova K. N., Kuznetsova E. A., Gudasheva T. A., Kovalev G. I. Antidepressant-like effects of cyclopropylglycine analogs and the involvement of serotonin-, glutamate-, and GABA-receptors in their mechanisms. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya* [Experimental and clinical pharmacology], 2019, vol. 82, no. 6, pp. 8–15 (in Russian).

9. Kravchenko E. V., Nasek V. M., Zhebrakova I. V. Features of habituation of exploratory-orienting activity in mice with different types of zoosocial contact and the effect of leucyl-proline hydrochloride on it. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk* [News of biomedical sciences], 2019, no. 2, pp. 24–28 (in Russian).

10. Savanets O. N., Borodina K. V., Olgomets L. M., Kravchenko E. V., Golubovich V. P., Petrov P. T. Influence of synthetic analogues of the arginine-vasopressin fragment on ultradian activity rhythms in rats. *Molodezh' v nauke – 2021: tezis dokladov XVIII Mezhdunarodnoi nauchnoi konferentsii molodykh uchenykh (Minsk, 27–30 sentyabrya 2021 goda). Chast' 2* [Youth in Science – 2021: Abstracts of the XVIII International scientific conference of young scientists (Minsk, September 27–30, 2021). Pt. 2]. Minsk, 2021, pp. 70–72 (in Russian).

11. Savanets O. N., Kravchenko E. V., Olgomets L. M., Pilyutskaya A. A., Borodina K. V., Pustyl'ga E. S., Golubovich V. P., Bizunok N. A. Study of the chronotropic properties of new analogues of arginine-vasopressin. *BGMU v avangarde meditsinskoj nauki i praktiki: retsenziruemyi ezhegodnyi sbornik nauchnykh trudov. Tom. 2. Vypusk 12. Fundamental'naya nauka – meditsine. Farmatsiya* [BSMU at the forefront of medical science and practice: a peer-reviewed annual collection of scientific papers. Vol. 2. Iss. 12. Fundamental science – medicine. Pharmacy]. Minsk, 2022, pp. 205–210 (in Russian).

12. Pilyutskaya A. A., Kravchenko E. V., Olgomets L. M., Savanets O. N., Borodina K. V., Golubovich V. P., Zil'berman R. D., Bizunok N. A. N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂ enhances the ability to habituate vertical locomotor activity in Wistar rats with a passive behavioral strategy. *Fundamental'naya nauka v sovremennoj meditsine – 2022: materialy nauchno-prakticheskoi konferentsii studentov i molodykh uchenykh (Minsk, fevral'–mart 2022 goda)* [Fundamental science in modern medicine – 2022: materials of the scientific and practical conference of students and young scientists (Minsk, February–March 2022)]. Minsk, 2022, pp. 217–220 (in Russian).

13. Bizunok N. A., Pilyutskaya A. A., Kravchenko E. V., Olgomets L. M., Savanets O. N., Borodina K. V., Golubovich V. P., Zil'berman R. D. Amplification of N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂ of implicit memory processes (habituation of locomotor activity) in stress-resistant Wistar rats. *Aktual'nye problemy sovremennoj meditsiny i farmatsii – 2022: sbornik tezisov dokladov LXXXVI Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii studentov i molodykh uchenykh (20–21 aprelyya 2022 goda, Minsk)* [Actual problems of modern medicine and pharmacy – 2022: collection of abstracts of the LXXXVI International scientific and practical conference of students and young scientists (April 20–21, 2022, Minsk)]. Minsk, 2022, p. 1197 (in Russian).

Информация об авторах

Кравченко Елена Валериевна – канд. биол. наук, доцент, вед. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: kravchenko@iboch.by

Ольгомец Любовь Михайловна – ст. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: olgomets@iboch.by

Саванец Оксана Николаевна – мл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: savanets@iboch.by

Бородина Ксения Владимировна – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: borodina@iboch.by

Пустульга Егор Сергеевич – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: Pustylga@iboch.by

Голубович Владимир Петрович – д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: golubovich@iboch.by

Зильберман Роман Дмитриевич – ст. науч. сотрудник, заведующий лабораторией. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: labtox@iboch.by

Бизунок Наталья Анатольевна – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: bizunokna@yandex.ru

Дубовик Борис Валентинович – д-р мед. наук, профессор. Белорусский государственный медицинский университет (пр. Дзержинского, 83, 220116, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dubovik@bsmu.by

Information about the authors

Elena V. Kravchenko – Ph. D. (Biol.), Associate Professor, Leading Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: kravchenko@iboch.by

Lyubov M. Olgomets – Senior Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: olgomets@iboch.by

Oksana N. Savanets – Junior Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: savanets@iboch.by

Kseniya V. Borodina – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: borodina@iboch.by

Egor S. Pustylga – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: Pustylga@iboch.by

Vladimir P. Golubovich – Dr. Sc. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: golubovich@iboch.by

Roman D. Zilberman – Senior Researcher, Head of the Laboratory. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: labtox@iboch.by

Natalia A. Bizunok – D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: bizunokna@yandex.ru

Boris V. Dubovik – D. Sc. (Med.), Professor. Belarusian State Medical University (83, Dzerzhynski Ave., 220116, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dubovik@bsmu.by