

УДК 577.171.4:327.2

ТЕСТИРОВАНИЕ НА МОДЕЛЯХ АГРЕССИВНОГО ПОВЕДЕНИЯ КРЫС И МЫШЕЙ ТРИПЕПТИДА pGluAsnGly

Рылов А.Л., *Уткин Ю.Н.

· Институт нормальной физиологии им.П.К.Анохина АМН СССР
*Институт биоорганической химии им.М.М.Шемякина АН СССР, Москва

В 1979 г. Reichelt и соавт. (Институт педиатрических исследований, Осло) выделили из мочи больных генерализованной липодистрофией ранее неизвестный трипептид pGluAsnGly, однократные инъекции которого мышам вызывали спонтанные агрессивные схватки [1]. Тест заключается в том, что самцов мышей, получивших это вещество, помещали в отдельные клетки и подсаживали к ним мышью-самца (интродера). При этом получившие пептид мышью-хозяева клеток (резиденты) атаковали интродеров и наносили им серьезные ранения [1].

Целью данной работы явилось изучение агрессивного действия указанного трипептида на различных моделях агонистического поведения у крыс и мышей.

Трипептид pGluAsnGly синтезировали классическим методом, используя для конденсации активированные нитрофениловые эфиры. Для защиты С-концевой карбоксильной группы применяли бензиловый эфир, а амидной функции—pGlu-бензилоксикарбонильную группу. В результате конденсации бензилового эфира глицина с п-нитрофениловым эфиром Вос-аспарагина получали дипептид Вос-Asn-Gly-OBzl. После удаления Вос-группы смесью трифторуксусной и уксусной кислот образующееся соединение конденсировали с п-нитрофениловым эфиром Z-пироглутаминовой кислоты. В результате этой реакции получали защищенный трипептид Zp-Glu-Asn-Gly-OBzl ($R_f=0,33$; хлороформ : метанол 9:1; $M+H^+$ 525). После удаления защитных групп смесью трифторуксусная кислота : трифторметансульфокислота : тиоанизол (10:1:2,2) деблокированный пептид осаждали из этанола эфиром ($R_f=0,3$; бутанол : уксусная кислота : вода—3:1:1; $M+H^+$ 301). Окончательную очистку трипептида проводили методом ВЭЖХ на колонке Zorbax ODS в системе метанол—вода.

Использовали модели агрессивного поведения: агрессию изолированных самцов, хищническую и электрошоковую агрессию, которые отражают важнейшие формы указанного поведения, существующие в природе—внутривидовую агрессию самцов, межвидовую и защитно-оборонительную агрессию [2].

Для проверки действия пептида в первой модели использовали самцов белых беспородных мышей массой 20 - 40 г, содержащихся в отдельных клетках в течение 3 суток и становившихся таким образом резидентами. Для тестирования агрессивных реакций в клетку к каждому резиденту на 15 мин помещали самца мыши (интродер) и подсчитывали количество резидентов, атакующих интродеров, а также количество атак с укусами, осуществляемых резидентами.

Таблица

Уровень внутривидовой агрессивности изолированных самцов мышей по показателям количества агрессивных животных (в %) и частоты атак против интродеров за 15 мин тестирования до и после п/к и в/ж инъекций трипептида

Вид инъекции	Вид инъекции и количество животных	Время после инъекции									
		До инъекции		5 мин		60 мин		24 ч		48 ч	
		I**	II	I	II	I	II	I	II	I	II
п/к-инъекция пептида	I агрессивные мыши (n=7)	100	26,4±2	42*	5,0±2*	58	12,6±2*	58	23,7±3	67	18,7±3
	II неагрессивные мыши (n=5)	0	0	0	0	0	0	0	0	20	4
	10 агрессивные мыши (n=6)	100	17,8±3	50*	6,7±3*	100	13,5±2	100	14,5±4	83	16,1±5
	II неагрессивные мыши (n=6)	0	0	0	0	0	0	17	2	0	0
	100 агрессивные мыши (n=8)	100	14,1±1	75	8,9±4	87	10,1±2	75	12,0±4	87	10,7±4
	II неагрессивные мыши (n=5)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Физ. агрессивные мыши (n=9)	100	17,0±1	77	5,1±2*	77	14,6±4	88	15,4±4	88	19,9±3
	раств. неагрессивные мыши (n=4)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10 агрессивные мыши (n=10)	100	22,2±1	10*	0,2±0,2	30*	2,1±1*	77	9,4±2*	77	15,9±4
	II неагрессивные мыши (n=10)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
в/ж инъекция	Физ. агрессивные мыши (n=4)	100	21,7±4	0	0	75	3,5±2*	75	9,5±4*	75	15,5±7
	раств.										

Примечание. * $p < 0,05$; I** — количество в % агрессивных самцов мышей, атакующих интродеров; II — количество атак со стороны резидентов против интродеров.

По окончании указанного этапа оказалось, что из 74 отобранных в опыт мышей агрессивность проявляли 44 животных, а у 30 она отсутствовала. В дополнение к методике Reichelt и соавт.[1], влияние пептида исследовали как на мышах, проявляющих агрессивность, так и на живот-

ных с заведомым отсутствием указанных реакций. Кроме того, были использованы повышенные дозы пептида. Для повышения эффективности воздействия применяли также внутримозговые (в/ж) инъекции пептида. Все животные были разделены на две группы, и им были сделаны инъекции пептида и физиологического раствора в левый желудочек мозга (таблица). После указанных введений тестирование агрессивных реакций осуществлялось через 5 мин, 24 и 48 ч так же, как и на подготовительном этапе при отборе агрессивных и неагрессивных животных. Статистический анализ проводили по критериям Стьюдента и Пирсона.

Как показывают данные, суммированные в таблице, подкожное (п/к) и в/ж введение пептида во всех дозах и на всех сроках тестирования не оказывало достоверного агрессивного эффекта по обоим показателям. Наоборот, через 5—60 мин после п/к и 5 мин—24 ч после в/ж инъекций пептида и физиологического раствора агрессивность мышей достоверно снижалась, что могло быть вызвано неспецифическими эффектами операционной процедуры. Через 24 ч после п/к введения пептида в дозе 10 нм и через 48 ч после инъекций вещества в дозе 1 нм по одной мышце из данных групп несколько раз атаковали интродуцеров. Однако статистический анализ не выявил достоверных отличий по сравнению с контрольными группами (таблица).

Во 2-ой и 3-ей сериях опытов изучали влияние трипептида на формируемое и сформированное поведение убийства крысами мышей (мурицид). Пептид в дозе 10 нм (в 20 мкл физиологического раствора) или физиологический раствор (20 мкл) вводили однократно в латеральные желудочки мозга беспородных белых крыс-самцов массой 200-250 г. Во 2-ой серии использовали по 10 крыс, получавших инъекции пептида или физиологического раствора. Сразу же после инъекций животных изолировали и в течение 4 дней лишали пищи с общей целью индукции у них мурицидности. Мурицидность, оцениваемую по числу крыс, убивающих мышей, тестировали ежедневно с 1 по 4 суток изоляции, для чего в клетку к крысе на 60 мин подсаживали беспородную мышь. В 3-ей серии опытов изучали влияние пептида на сформированную под влиянием изоляции и пищевой депривации мурицидность. Пептид и физиологический раствор так же, как и во 2-ой серии, инъектировали 2 группам, включающим по 5 животных, у которых было предварительно выработано поведение убийства мышей. Тестирование проводили в течение 4 дней.

Результаты экспериментов показали, что инъекции трипептида не оказывают достоверного влияния ни на формирование у крыс мурицидности, ни на сформированную агрессивность крыс-убийц мышей.

В 4-ой серии опытов исследовали влияние трипептида на электролеводную агрессивность крыс. Опыты проводили на самцах беспородных белых крыс массой 200-250 г, содержащихся по 6 животных в клетке. Инъекции трипептида вводили 6 животным в дозах 10 нм п/к и интрацеребрально, как во 2-ой и 3-ей сериях опытов. Контрольные группы получали физиологичес-

кий раствор.

Тестирование агрессивности крыс, парно помещаемых на электрифицированную решетку, проводили через 30 мин и далее через 1 и 24 ч после введения вещества по ранее описанной методике [2]. Результаты опытов показали, что трипептид после п/к и в/ж введений не оказывает достоверного влияния на уровень электролевой агрессивности крыс по сравнению с контрольными группами.

За все время наблюдения крыс и мышей после введения трипептида во всех дозах п/к и в/ж введений не отмечалось каких-либо побочных или токсических эффектов.

Общий вывод, который следует из проведенной работы, состоит в том, что инъекции трипептида pGluAsnGly не оказывают достоверного влияния на межсамцовую агрессивность мышей (1—100 нм п/к и 10 нм в/ж), хищническую и электролевою агрессивность крыс (10 нм п/к и в/ж) и не вызывают в этих дозах побочных или токсических эффектов.

Следовательно, результаты, полученные Reichelt и соавт. в описанных условиях, не удалось воспроизвести. Характерно, что инъекции трипептида не только не оказывали воздействие на агрессивность животных, но и вообще никак не отражались на их поведении. Между тем, интрацеребральная доза 10 нм является достаточно высокой, и практически все известные биологические пептиды при введении в таких же количествах вызывали те или иные изменения в поведении крыс и мышей вплоть до токсических эффектов.

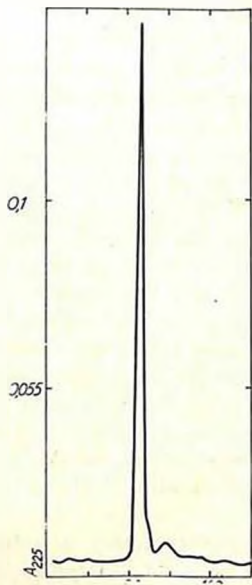


Рис. Очистка 2,5 мг трипептида pGluAsnGly на колонке Zorbax ODS (21,9×250 мм). Условия элюирования: 5%-ный метанол в 0,1%-ной трифторуксусной кислоте, скорость 10 мл/мин

EFFECT OF TRIPEPTIDE pGluAsnGly ON AGGRESSIVE BEHAVIOR OF MICE AND RATS

Rylov A.L., * Utkin Yu.N.

*Anokhin Institute of Normal Physiology, USSR Academy of Medical Sciences
Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, USSR Academy of Sciences, Moscow

Biological activity of tripeptide pGluAsnGly synthesized by the classical method was tested on three models of aggressive behaviour (isolated male aggression, predatory aggression and aggression provoked by the electric shock). The tripeptide induced no aggression in mice and rats even at high doses and did not affect the animal behavior. .

ЛИТЕРАТУРА

1. Reichelt K.L., Trygstad O.E., Foss I., Johansen J.H. Psychopharmacology of aggression (ed.M.Sandler), Raven Press, N.Y.,p.159 - 166,1979.
- 2.Valzelli L. Progr. Neuro-psychopharmacol.,v.2, p.591 - 613,1978.

Поступила 27.11.1988