

**Изучение мнестической активности аналогов С-концевого
фрагмента молекулы вазопрессина в тесте «острого» угашения
исследовательско-ориентировочной реакции после воздействия
неизбегаемого стресса**

Кравченко Е.В.¹, Пилюцкая А.А.², Саванец О.Н.¹,

Бородина К.В.¹, Бизунок Н.А.²

e-mail: kravchenko@iboch.by

¹Институт биоорганической химии Национальной академии наук
Беларуси, ²УО Белорусский государственный медицинский университет
Министерство здравоохранения Республики Беларусь

Аннотация: Целью исследования являлось изучение мнестической активности 5 тетрапептидов – аналогов С-концевого фрагмента молекулы вазопрессина в тесте «острого» угашения исследовательско-ориентировочной реакции после воздействия неизбежного стресса (принудительное плавание). Тетрапептиды I – N-Ac-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂; IV – N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂ и V – N-Ac-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂, структурно родственные фрагменту АВП₆₋₉, оказывали статистически значимое модулирующее влияние на процессы габитуации крыс Wistar, подвергшихся ПП: соединение I (1,0 мкг/кг) ослабляло, а IV (0,1-10,0 мкг/кг) и V (10,0 мкг/кг; менее выражено, чем IV) облегчали неассоциативное обучение.

Ключевые слова: тетрапептиды, N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂, вазопрессин, габитуация, крысы

Введение. Среди около 100 идентифицированных нейропептидов в настоящее время в высокой степени привлекают внимание научной медицинской общественности нонапептиды аргинин-вазопрессин (АВП) и окситоцин [1, 2]. АВП вырабатывается в областях мозга, имеющих ключевое значение для поведения – в паравентрикулярном и супраоптическом ядрах гипоталамуса [3], и транспортируется в заднюю часть гипофиза, откуда и высвобождается в систему кровообращения. Вазопрессин оказывает воздействие на функционирование центральной и вегетативной нервной системы, в частности, вызывает усиление стресс-индуцированной реакции [4], проявляет анксиогенное действие [4]. Мнемотропные эффекты вазопрессина и его производных изучались на протяжении нескольких десятилетий и продолжают привлекать внимание исследователей [5].

Ось гипоталамус-гипофиз–кора надпочечников (ГГКН) ответственна за процессы адаптации к факторам внешней среды в условиях стрессового воздействия. Вызванная стрессом активация оси ГГКН, сопровождающаяся

повышением уровня глюкокортикоидов в крови, индуцирует нарушения процесса воспроизведения информации (извлечения следа памяти) [5].

Привыкание расценивают как "простейшую форму обучения" [6], которая позволяет животным отфильтровать малозначимые и выборочно сосредоточиться на важных раздражителях [6], т.е. габитуация позволяет организму посредством рефлексии отсеивать ненужную информацию [7]. По этой причине названная форма обучения является обязательным условием для реализации остальных форм такового; для расшифровки механизмов более сложных форм обучения необходимо понимание основных «модулей» габитуации [6].

Цель исследования – изучение влияния тетрапептидов (аналогов С-концевого фрагмента молекулы вазопрессина) на процессы неассоциативного обучения в тесте угашения исследовательско-ориентировочной активности (ИОР) после неизбежного стресса.

Материалы и методы. Проведены скрининговые исследования мнемотропной активности 5 тетрапептидов в экспериментах на аутбредных крысах-самцах Wistar.

Соединения *I* - *V* были синтезированы в лаборатории прикладной биохимии Института биоорганической химии НАН Беларуси [8].

Изученные соединения и пути введения: *I* (N-Ас-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂; В-1) – интраназально (и/н), 0,1, 1,0 и 10,0 мкг/кг; *II* (N-Ас-DSer-Pro-Arg-Gly-NH₂; В-2) - и/н, 0,1, 1,0 и 10,0 мкг/кг; *III* (N-Ас-Phe-Pro-Arg-Gly-NH₂; В-3) - и/н, 0,1, 1,0 и 10,0 мкг/кг; *IV* (N-Ас-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂; В-4) - и/н, 0,1, 1,0 и 10,0 мкг/кг; *V* (N-Ас-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂; В-5) - и/н, 0,1, 1,0 и 10,0 мкг/кг.

Особи контрольной группы серии 1 не подвергались стрессирующему воздействию. Для моделирования «поведения отчаяния» у грызунов серий 2 и 3 использовали парадигму принудительного плавания (ПП) - 16 мин, двукратно с интервалом 24 часа. Введение соединений осуществляли перед вторым сеансом ПП. Спустя 20 мин по окончании второго сеанса ПП животных поодиночке помещали в актометр «Универсал 22–32» на 90 мин для оценки угашения ИОР. Вследствие оценки животными окружающей обстановки как биологически незначимой в условиях «нормы» отмечается постепенное снижение локомоторной активности. Особям контрольных групп серий 2 и 3 назначали дистиллированную воду интраназально (и/н), а особям основных групп (ОГ) – тетрапептиды *I* - *V* и/н в дозах 0,1; 1,0; 10,0 мкг/кг. Определяли отношение ГДА животных в заключительном 10-минутном интервале к исходному уровню (первые 10 мин).

Результаты и их обсуждение. У крыс Wistar, не подвергавшихся ПП, начиная с 21-30 мин и далее до конца наблюдения отмечалось статистически достоверное угашение ИОР ($p < 0,05$) – см. таблицу 1. У особей контрольной группы в серии 2 статистически значимое снижение

ГДА имело место в те же сроки, что и у контроля без применения ПП. В серии 3 отмечено торможение процессов габитуации после ПП: уровня статистической достоверности угашение достигало в сроки 51-60 мин. Повышение локомоции у крыс серий 2 и 3 (но не серии 1) в сроки 81-90 мин, вероятно, связано с усилением ориентировочной реакции вследствие повышения уровня тревожности (УТ) на фоне стресса – см. таблицы 1 и 2.

Таблица 1 – Влияние интраназального введения аналогов С-концевого фрагмента аргинин-вазопрессина I – III на горизонтальную двигательную активность (ГДА) крыс

Группа/доза (мкг/кг)/ число животных	Интервал регистрации, мин / N _{ГДА} , усл. ед.			
	0-10	21-30	51-60	81-90
<i>без «принудительного плавания», серия I</i>				
Контроль (n=7)	1554±237,6	635,4±186,1 [@]	267,1±164,1*	84,9±39,2*
<i>после «принудительного плавания»</i>				
<i>Серия 2</i>				
Контроль (n=14)	825.6±53.3	355.1±93.6* [@]	133.2±52.0*	288.4±80.47*
I, 0.1 (n=10)	903.7±87.5	317.3±84.4* [@]	176.3±75.3*	375.9±110.6*
I, 1.0 (n=9)	834.9±57.7	787.2±165.3	150.8±67.0* [#]	492.1±140.6 ⁰
I, 10.0 (n=5)	633.6±180.8	377.8±105.7	160.0±135.3	233.4±188.5
II, 0.1 (n=10)	770.2±101.8	367.6±96.4 [@]	219.8±114.0*	477.0±89.3
II, 1.0 (n=10)	890.9±112.9	354.9±114.0* [@]	222.3±57.5*	276.2±110.3*
II, 10.0 (n=10)	951.2±131.3	373.0±86.0* [@]	265.5±98.3*	254.8±100.5*
III, 0.1 (n=10)	827.0±52.5	280.2±92.0* [@]	139.5±63.5*	153.8±49.3*
III, 1 (n=10)	729.7±121.2	202.9±64.1* [@]	160.8±70.6*	295.4±122.8*
III, 10.0 (n=10)	1066.0±137.4	438.2±103.6* [@]	265.1±93.9*	344.7±120.4*

Примечания: 1 Здесь и далее – N_{ГДА}, усл. ед. – число движений в горизонтальной плоскости за 10 мин наблюдения (первые 10 мин и последние 10 мин в каждом из трех последовательных 30-минутных интервалов); 2 Различия статистически значимы, p < 0,05: * – в сравнении с исходным уровнем ГДА (первые 10 мин регистрации), критерий Фридмана (здесь и далее - с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Ньюмена-Кейлса), [#] – с ГДА в период с 21 по 30 мин, критерий Фридмана, [@] - то же, критерий Уилкоксона, ⁰ – с ГДА в период с 51 по 60 мин, критерий Фридмана; 3 I – N-Ac-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂; II – N-Ac-D-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂; III – N-Ac-Phe-Pro-Arg-Gly-NH₂.

В условиях 30-минутной регистрации на фоне ПП соединение *I* (1.0 мкг/кг) статистически значимо ослабляло, *II* – существенно не влияло на процессы неассоциативного обучения, *III* (1.0 мкг/кг) – несколько усиливало, *IV* (1.0 мкг/кг, в меньшей степени – 0,1 и 10,0 мкг/кг) и *V* (10.0 мкг/кг) – облегчали процесс габитуации. Модуляция уровня ГДА в сроки 51-90 мин, по-видимому, была связана с влиянием тетрапептидов на УТ грызунов, что нуждается в дополнительном изучении.

Таблица 2 – Влияние интраназального введения аналогов С-концевого фрагмента аргинин-вазопрессина *IV* и *V* на горизонтальную двигательную активность (ГДА) крыс

Группа/доза (мкг/кг)/ число животных	Интервал регистрации, мин / N _{ГДА} , усл. ед.			
	0-10	21-30	51-60	81-90
<i>после «принудительного плавания»</i>				
<i>Серия 3</i>				
Контроль (n=10)	747.3±87.3	437.3±111.1	95.8±46.2*	191.9±93.4*
<i>IV</i> , 0.1 (n=10)	917.4±72.0	342.6±112.2* [@]	360.0±99.2*	344.4±100.1*
<i>IV</i> , 1.0 (n=10)	633.6±91.9	152.5±61.9* [@]	97.6±55.3*	230.5±64.7*
<i>IV</i> , 10.0 (n=10)	907.9±58.5	415.7±65.4* [@]	186.4±76.3*	244.3±100.0*
<i>V</i> , 0.1 (n=10)	907.8±116.4	388.7±75.2 [@]	141.6±63.6*	467.2±188.5
<i>V</i> , 1.0 (n=10)	787.7±140.5	599.8±136.3	138.1±62.6* [#]	315.5±99.3
<i>V</i> , 10.0 (n=19)	799.1±48.4	346.4±79.7* [@]	263.8±116.1*	222.4±60.9*

Примечания: 1 Различия статистически значимы, $p < 0,05$: * – в сравнении с исходным уровнем ГДА (первые 10 мин регистрации), критерий Фридмана (здесь и далее – с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Ньюмена-Кейлса), # – с ГДА в период с 21 по 30 мин, критерий Фридмана, @ – то же, критерий Уилкоксона; 2 *IV* – N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂; *V* – N-Ac-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂

Заключение. Тетрапептиды *I* – N-Ac-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂; *IV* – N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂ и *V* – N-Ac-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ структурно родственные фрагменту АВП₆₋₉, оказывали статистически значимое модулирующее влияние на процессы габитуации крыс Wistar, подвергшихся ПП: соединение *I* (1.0 мкг/кг) ослабляло, а *IV* (0,1-10,0 мкг/кг) и *V* (10.0 мкг/кг; менее выражено, чем *IV*) облегчали неассоциативное обучение.

Список литературы

1. Mitra, K. Oxytocin and vasopressin: the social networking buttons of the body / K. Mitra // AIMS Molecular Science. – 2021. – V. 8, N 1. – P. 32–50.
2. Grinevich, V. Brain oxytocin: how puzzle stones from animal studies translate into psychiatry / V. Grinevich, I.D. Neumann // Molecular psychiatry. – 2021. – V. 26. – P. 265–279.
3. Ishunina, T.A. Vasopressin and oxytocin neurons of the human supraoptic and paraventricular nucleus: size changes in relation to age and sex / T.A. Ishunina, D.F. Swaab // J. Clin. Endocrinol. Metab. – 1999. – V. 84, N 12. – P. 4637–4644.
4. Benarroch, E. E. Oxytocin and vasopressin social neuropeptides with complex neuromodulatory functions / E. E. Benarroch // Neurology. – 2013. – V. 80, N 16. – P. 1521–1528.
5. The Vasopressin 1b Receptor Antagonist A-988315 Blocks Stress Effects on the Retrieval of Object–Recognition Memory / C. A. Barsegyan [et al.] // Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology. – 2015. – V. 40. – P. 1979–1989.
6. Habituation revisited: an updated and revised description of the behavioral characteristics of habituation / C.H. Rankin [et al.] // Neurobiology of learning and memory. – 2009. – Vol. 92, N 2. – 135–138.
7. Steiner, G.Z. The mechanism of dishabituation / G.Z. Steiner, Barry R.J. // Frontiers in integrative neuroscience. – 2014. – V. 8, N. 14.
8. Синтез и исследование антидепрессивных свойств новых аналогов аргинин-вазопрессина / К. В. Бородина [и др.] // Биоорганическая химия. – 2022. – Т. 48, № 3. – С. 357–370.

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**ПУТИ И ФОРМЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ОБРАЗОВАНИЯ. АКТУАЛЬНЫЕ
ВОПРОСЫ РАЗРАБОТКИ И ИССЛЕДОВАНИЯ НОВЫХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

**Сборник трудов 9-ой Международной научно-методической
конференции**

«Фармобразование-2023»

г. Воронеж, 28-29 сентября 2023 г.

**Посвящается 25-летию создания фармацевтического факультета в
Воронежском государственном университете**

**Издательский дом
Воронежского государственного университета
2023**