

О.Н. Саванец*, Д.И. Макеева
ИЗУЧЕНИЕ НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ
ТЕТРАПЕПТИДОВ В-1, В-2, В-3, В-4, В-5 У КРЫС WISTAR

Научные руководители: д-р мед. наук, проф. Н.А. Бизунок,
канд. биол. наук, доц. Е.В. Кравченко*

Кафедра фармакологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

**Институт биоорганической химии НАН Беларуси, г. Минск*

O.N. Savanets*, D.I. Makeyeva
STUDY OF NEUROPHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF TETRAPEPTIDES
B-1, B-2, B-3, B-4, B-5 IN WISTAR RATS

Tutors: professor N.A. Bizunok, PhD, associate professor E.V. Kravchenko*

Department of Pharmacology

Belarusian State Medical University, Minsk

**Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk*

Актуальность. Аргинин-вазопрессин (АВП) участвует не только в регуляции осмотического давления плазмы крови и артериального давления, но и в таких процессах высшей нервной деятельности, как обучение, формирование эмоций и социального поведения. Дополнительно установлено, что у людей АВП оказывает влияние на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему, регулирует глутаматергическую и серотонинергическую нейротрансмиссию [1]. Обсессивно-компульсивное расстройство (ОКР) является распространенным (от 1,5 до 3%) заболеванием, снижающим качество жизни пациента из-за возникновения obsessions (навязчивых и пугающих идей) и compulsions – ритуалов, направленных на уменьшение тревоги [2]. Тревожные расстройства являются самой часто встречающейся группой психических расстройств, около 10% населения сталкивается с ними ежегодно [3]. В 75% случаев ОКР сочетается с тревожными расстройствами [2]. Препаратами первой линии в терапии ОКР и ТР являются селективные ингибиторы обратного захвата серотонина (СИОЗС), однако терапия ОКР предполагает назначение СИОЗС в высоких дозах, что приводит к развитию выраженных побочных эффектов, а при лечении ТР с помощью СИОЗС в первые 2 недели наблюдается усиление тревоги; в обоих случаях наблюдается низкая приверженность лечению среди пациентов [2,3]. Разработка новых лекарственных средств на основе аналогов АВП и его С-концевого фрагмента актуальна вследствие высокой биологической активности и низкой токсичности данных соединений [4].

Известно, что высокий уровень вертикальной двигательной активности (ВДА) у животных отражает интенсивную исследовательско-ориентировочную активность (ИОР) и низкий уровень тревожности. В условиях «острого» неизбежного стресса подвижность животных снижается (в отдельных случаях отмечается «freezing»-реакция). Возрастание подвижности в указанных условиях указывает на повышение адаптации к окружающей обстановке и восстановление исследовательского

поведения, способности к активному освоению среды в условиях «стресса новизны» [5].

Цель: скрининговое изучение фармакологической активности тетрапептидов В-1 – В-5 в экспериментах на крысах Wistar в условиях актометрии после воздействия неизбежного стресса; отбор наиболее перспективных соединений.

Задачи:

1. Исследовать корректорное влияние тетрапептидов В-1, В-2, В-3, В-4, В-5 на индуцированную «острым» стрессом гипоактивность у крыс Wistar в сравнении с интактными (нестрессированными) грызунами и стрессированными животными контрольных групп.

2. Оценить влияние тетрапептидов В-1, В-2, В-3, В-4, В-5 на ультракраткосрочную габитуацию предварительно стрессированных животных в сравнении с интактными и стрессированными крысами Wistar.

3. Провести статистическую обработку полученных данных, изучить зависимости «структура-действие» и «доза-эффект».

Материалы и методы. Эксперименты проводили на аутбредных половозрелых крысах-самцах Wistar (n=183). На первом этапе проводили стрессирование животных (неизбежаемый стресс в условиях принудительного плавания – Forced Swim Test по методике Porsolt). На втором этапе проводили актометрию в аппарате “Ugo Basile” в условиях тестирования животных поодиночке на протяжении 5 мин. Олигопептиды N-Ac-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-1), N-Ac-DSer-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-2), N-Ac-Phe-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-3), N-Ac-DSer-Pro-DArg-Gly-NH₂ (В-4), N-Ac-Trp-Pro-Arg-Gly-NH₂ (В-5) синтезированы в лаборатории прикладной биохимии Института биоорганической химии НАН Беларуси (Бородин К.В., Грибовская О.В. и соавт.). Растворитель (Р; вода дистиллированная) и тетрапептиды вводили грызунам интраназально (и/н).

Формировали 17 экспериментальных групп (I–XVII), число грызунов в группе – от 6 до 24. Группа I (К-1) – интактный нестрессированный контроль. Крысам групп II–IV вводили В-1 в дозах 0,1; 1,0 и 10,0 мкг/кг; групп V–VII – В-2; VIII–X – В-3; XI – XIII – В-4; XIV–XVI – В-5 в дозах 0,1; 1,0 и 10,0 мкг/кг соответственно; животные группы XVII (К-2) получали растворитель. Уровень ВДА (в условных единицах – усл.ед.) грызунов определяли суммарно за 5 мин актометрии. Проводили анализ числа вертикализаций у каждого животного по шкале: «низкая ВДА» – менее 150 усл.ед., «средняя ВДА» – 150 – 500 усл.ед., «высокая ВДА» – более 500 усл.ед.

Статистическую обработку цифровых показателей проводили методами вариационной статистики, с использованием программного обеспечения Statistica 10.0, Biostat 4.03 (Glantz S.A., 1998). Для сравнения 2 зависимых выборок применяли критерий Уилкоксона, анализ качественных признаков проведен с использованием точного критерия Фишера.

Результаты и их обсуждение. В группе интактного контроля (К-1) у 50% животных уровень ВДА оценивался как высокий и у 50% – как средний, что говорит о высоком уровне ИОР. В группе стрессированного контроля (К-2) число животных со средним уровнем ВДА было найдено равным 54,2%, с высоким уровнем – вдвое меньше, чем в «норме» (25% против 50% в К-1).

Такой дисбаланс в К-2 обусловлен формированием когорты грызунов (20,8%) с низкими значениями ВДА. Соединения В1–В5 смещали уровень ВДА в сторону среднего и высокого. Наиболее выраженной активностью характеризовался В-2 (10,0 мкг/кг): у 30% крыс ВДА оценена как «средняя», у 70% - «высокая» (различия с К-2 статистически значимы, $p < 0,05$) (см. Таблицу 1).

Табл. 1. Влияние тетрапептидов на долю животных с высоким уровнем ВДА в исследуемых группах

Группа/доза, мкг/кг, и/н	Группа	Доля животных с высоким ВДА, %
Серия 1		
Контроль-1 (интактный) (n=6)	I	50,0
Серия 2		
N-Ac-LSer-LPro-LArg-Gly-NH ₂ (B-1) 0,1 (n=10)	II	30,0
1,0 (n=9)	III	33,3
10,0 (n=5)	IV	0,0
Серия 3		
N-Ac-DSer-LPro-LArg-Gly-NH ₂ (B-2) 0,1 (n=10)	V	20,0
1,0 (n=10)	VI	50,0
10,0 (n=10)	VII	70,0*
N-Ac-LPhe-LPro-LArg-Gly-NH ₂ (B-3) 0,1 (n=10)	VIII	40,0
1,0 (n=10)	IX	10,0
10,0 (n=10)	X	50,0
Серия 4		
N-Ac-DSer-LPro-DArg-Gly-NH ₂ (B-4) 0,1 (n=10)	XI	30,0
1,0 (n=10)	XII	10,0
10,0 (n=10)	XIII	20,0
N-Ac-LTrp-LPro-LArg-Gly-NH ₂ (B-5) 0,1 (n=10)	XIV	30,0
1,0 (n=10)	XV	20,0
10,0 (n=19)	XVI	36,8
Серии 2-4		
Контроль-2 (n=24)	XVII	25,0

Примечание - * - Различия контролем-2 статистически значимы, $p < 0,05$, точный критерий Фишера

В группе интактного контроля-1 угашение ВДА в пятую минуту относительно уровня в первую минуту актометрии отмечено у 50% животных ($p > 0,05$), в группе стрессированного контроля -2 – 54,2% ($p > 0,05$), в группе В-1 в дозе 10,0 мкг/кг – 88,9% ($p > 0,05$), в группе В-5 в дозе 1,0 мкг/кг – 100,0% ($p < 0,02$, критерий Уилкоксона). Для В-5 (1,0 мкг/кг) различия с группой контроль-2 достигали уровня статистической достоверности ($p = 0,014$, критерий Фишера).

Выводы. Наиболее выраженный эффект отмечен для двух тетрапептидов, структурно родственных С-концевому фрагменту АВП – производных, содержащих

остаток D-серина или триптофана. Статистически значимое активирующее действие в отношении ВДА оказывал В-2, препятствовавший стрессогенной гипоактивности. В-5 в дозе 1,0 мкг/кг.

Литература

1. Hu H. Arginine vasopressin in mood disorders: A potential biomarker of disease pathology and a target for pharmacologic intervention / H. Hu, C.A. Zarate, J. Verbalis // *Psychiatry Clin Neurosci.* – 2024. Vol. 78, Issue 9. – P. 495-506.
2. Диагностика и терапия расстройств обсессивно-компульсивного спектра в общемедицинской и неврологической практике / Д. С. Петелин [и др.] // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* – 2023. – Т. 15, № 2. – С. 98–105.
3. Тревожные расстройства в клинической практике (обзор литературы с клинической иллюстрацией) / Д. С. Петелин [и др.] // *Медицинский совет.* – 2024. – Т. 18, № 12. – С. 52–60.
4. Non-clinical Review(s). Pharmacology/toxicology NDA review and evaluation (Vasopressin). FOOD AND DRUG ADMINISTRATION CENTER FOR DRUG EVALUATION AND RESEARCH. Date of review submission: November 18, 2019. – Silver Spring, USA. – 37 p.
5. Prut L. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review / L. Prut, C. Belzung // *European Journal of Pharmacology.* – 2003. – Vol. 463, Issue 1-3. – P. 3-33.