

УДК: 615.015.1:599.323.4

ИЗУЧЕНИЕ ДОЗОЗАВИСИМЫХ ЭФФЕКТОВ V-5 В ТЕСТЕ ПРИПОДНЯТОГО КРЕСТООБРАЗНОГО ЛАБИРИНТА

Саванец О.Н., Кравченко Е.В., Сикита Д.В., Бородина К.В., Грибовская О.В.

*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларусь,
Минск, Республика Беларусь*

Реферат. Предметом исследования явилась оценка влияния тетрапептида V-5, структурно родственного С-концевому аналогу фрагмента аргинин-вазопрессина (АВП), на ситуационную тревожность. Исследования проводили с использованием методики приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ) с предварительным ранжированием животных или без такового. Показано, что соединение V-5 в низких дозах (0,02 мкг/кг и 0,1 мкг/кг) существенно повышало уровень тревожности (УТ). Снижение УТ по отдельным показателям на фоне V-5 (0,5 мкг/кг и 1,0 мкг/кг) может указывать на слабо выраженное анксиолитическое действие и/или усиление процессов адаптации к новой обстановке.

Ключевые слова: тетрапептид V-5; аргинин-вазопрессин; ситуационная тревожность; мыши.

Введение. Актуальной проблемой психо-фармакологии является поиск новых фармакологических веществ и лекарственных средств для регуляции уровня тревожности.

Тревожность имеет две формы: ситуационная (state anxiety; реактивная) и личностная (trait anxiety) (Spielberger, 1972). Ситуационная тревожность представляет собой нормальное состояние повышенного беспокойства, напряжения и нервозности, возникающее как реакция на стрессовую или незнакомую ситуацию, воспринимаемую как угрожающую или значимую. Ситуационная тревожность напрямую связана с восприятием потенциальной угрозы, так что ее интенсивность имеет тенденцию увеличиваться при наличии угрозы и прекращается, когда ее больше нет [1]. Повышение ситуационной тревожности у человека перед экзаменом, публичным выступлением, визитом к врачу, во время полета на самолете, на собеседовании при приеме на работу, при вождении в сложных условиях нормальная реакция на внешние стимулы и может играть положительную роль, способствуя концентрации энергии на достижении желаемой цели, носит характер приспособления. В последнее десятилетие получены новые данные об участках мозга, участвующих в формировании ситуационной тревожности (лимбическая система – островковая доля (Tian et al., 2016) и гиппокамп (Satpute et al., 2012)).

Перечень средств терапии тревожных состояний включает соединения нескольких классов: селективные ингибиторы обратного захвата серотонина и селективные ингибиторы обрат-

ного захвата серотонина и норадреналина; бензодиазепины; небензодиазепиновые анксиолитики [2; 3]. Бета-адреноблокаторы используются кратковременно, преимущественно для купирования соматических проявлений тревоги. Пациентам с фобическими расстройствами можно назначать прегабалин 300–600 мг/сутки для снижения уровня тревожности (УТ) и интенсивности фобических переживаний. Имеются исследования, подтверждающие эффективность габапентина 900–3600 мг/сутки в отношении тревожно-фобических расстройств [3].

Поскольку побочные эффекты вышеперечисленных лекарственных препаратов ограничивают их широкое применение, актуальны исследования в указанном направлении. К числу перспективных соединений относят регуляторные пептиды: эндогенный нейропептид окситоцин, который может быть эффективен при наличии у пациента тревожной симптоматики, и/или депрессии и психозов при шизофрении (Колик и др., 2017); синтетический аналог тафтсина селанк (сопоставимый с медазепамом по уровню эффективности), предлагаемый к применению у лиц с тревожными расстройствами (Колик и др., 2017). В условиях эксперимента фрагмент кортикотропина АКТГ₄₋₁₀ семакс и нейропептид Y проявляют противотревожные свойства на различных животных моделях стрессовых расстройств (Колик и др., 2017). В регуляции тревоги также участвуют нейропептид галанин (модулирует тревожность) (Lu, 2005), нейростероид аллопрегнанолон (обладает антидепрессивным и анксиолитическим дей-

ствием) (Zorumski, 2019). Известно, что аргинин-вазопрессин снижал ситуационную тревожность при введении в дозе 20 МЕ и 40 МЕ у мужчин, а в дозе 20 МЕ – у женщин [4]. Результаты исследований показали, что рецепторы V_{1a} (наиболее распространенный тип рецепторов АВП в головном мозге) вовлечены в регуляцию УТ. У мышей-самцов с нокаутом гена рецептора V_{1a} в нескольких поведенческих тестах отмечено статистически значимое снижение УТ в сравнении с мышами дикого типа. Это хорошо согласуется с наблюдением о том, что избыточная экспрессия гена рецептора V_{1a} в боковой перегородке значительно увеличивает тревожное поведение. Лабораторные крысы и мыши с низким УТ, отобранные по их поведению в teste ПКЛ, характеризуются «дефицитом» уровня АВП в гипоталамусе и ведут себя аналогично крысам, получавшим анксиолитики, что подтверждает роль АВП в возникновении тревоги. И наоборот, введение антагониста рецептора V_{1a} снижало тревожное и депрессивноподобное поведение у крыс с высоким уровнем тревожного поведения (НАВ) [5].

По опубликованным данным, моделирование взаимодействия фрагментов АВП₄₋₉ с V_{1a} -рецептором показало, что короткие фрагменты АВП₄₋₅ (pGln-Asn-OH) и АВП₇₋₉ (H-Pro-Arg-Gly-NH₂) не связывались с исследуемой областью рецептора и имели более высокие значения энергии взаимодействия (средние значения –4,30 и –4,60 ккал/моль соответственно), чем АВП₄₋₉ (среднее значение –7,50 ккал/моль). Соединение V-5 – тетрапептид, структурно родственный С-концевому фрагменту АВП. Данные компьютерного моделирования (молекулярный докинг рецептора V_{1a}) позволяют предположить, что V-5 относится к соединениям, потенциально обладающим поведенческой активностью (Бородина и др., 2022).

Цель исследования: изучить модифицированный аналог фрагмента аргинин-вазопрессина (тетрапептид V-5) с применением методики приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ – классическая модель для оценки ситуационной тревожности (Goes et al., 2009)), провести анализ спектра доз, в которых соединение проявляет фармакологическую активность.

Задачи исследования: 1) изучить в teste ПКЛ зависимость «доза-эффект» для эффектов V-5 в отношении уровня тревожности; 2) оце-

нить возможную индивидуальную чувствительность к V-5 и хронотропные аспекты его действия на ситуационную тревожность грызунов.

Материалы и методы. Использовали установку «Elevated Plus Maze» (Columbus Instrument, США), которая состоит из крестообразно расходящихся от центральной площадки (ЦП) под прямым углом 4 рукавов: два противоположных, открытых, без стенок, и два закрытых, тёмных. Размеры ПКЛ: рукава – 30×5×15 см, ЦП – 5×5×15 см, ПКЛ приподнят на 40 см над уровнем пола. Животное помещали в ПКЛ на ЦП, головой к открытому рукаву, и в течение установленного интервала времени (поминутно 5 мин) регистрировали число заходов в открытые (N_{op}) и закрытые (N_{cl}) рукава, число свешиваний с открытых рукавов ($N_{u.dip}$), продолжительность пребывания в открытых (T_{op}) и закрытых (T_{cl}) рукавах, продолжительность пребывания на центральной площадке (T_{centr}), латентный период захода в открытый рукав (ЛП); долю животных в популяции, которые находились в открытом рукаве лабиринта не менее 5 с в 1 мин наблюдения (D_{top}); долю мышей в группе, ЛП которых составлял менее 90 с (D_{LP}) [6].

Контрольные животные предпочитают большую часть времени проводить в закрытых, темных рукавах. Влияние V-5 на УТ оценивали по увеличению (анксиолитический эффект) или снижению (анксиогенное действие) числа заходов в «светлые» рукава и времени нахождения в них без изменения общего числа заходов, а также по увеличению (противотревожные изменения) числа свешиваний с открытых рукавов (ОР). Продолжительность нахождения на ЦП позволяла оценить скорость принятия решения. По числу заходов в закрытые рукава (ЗР) определяли общую двигательную активность. Возрастание доли D_{top} и D_{LP} в 1 мин и/или 1–2 мин (но не в последующий период тестирования) могло указывать как на изменения УТ, так и на способность адаптироваться к новой обстановке.

Исследование осуществляли в два этапа. На **1-м этапе** в эксперименты по изучению зависимости «доза-эффект» для V-5 включали лишь неагрессивных особей. На **2-м этапе** проводили ранжирование с определением индивидуального статуса животного в зоосоциальной иерархии.

Определение зоосоциального статуса на кануне **1-го этапа** (до введения V-5) проводили следующим образом: в каждой «домашней» клетке мышей ICR визуально с использованием этологического атласа определяли особей, демонстрировавших атаки в отношении своих сородичей.

Перед началом **2-го этапа** (до назначения образцов) в каждую микроколонию мышей ICR поочередно помещали на 5 мин конспецифичную особь (инбредная мышь C57Bl/6 – интрудер) из другой «жилой» клетки; определяли особей, проявлявших реакции нападения и/или угрозы в отношении членов микроколонии и/или интрудера [6]. Элементы агрессивного поведения: попытка укусить, фактический укус, поза «боксера», поза «борьбы», биение хвостом (Einhart, 2007); «фациальные» (facial) проявления (исключительно у агрессивного животного) – прищуривание глаз (рис. 1). Грызунов делили на три подгруппы: 1) подгруппа А – мыши, избегавшие зоосоциальных взаимодействий с «интрудером» или совершившие 1–2 контакта с «чужаком»; подгруппа В – совершившие 3–4 контакта, и подгруппа С – вступавшие в 5 и более контактов с «чужаком» (число контактов: сумма числа обнюхиваний, актов аллогруминга и атак «интрудера» – самца линии C57Bl6).

«Интрудер» выступал в качестве стрессирующего фактора; животные популяции (*A* + *C*) неустойчивы к действию стрессора (реагировали на появление «чужака» избеганием или чрезмерной агрессией), а мыши подгруппы *B* устойчивы к воздействию стресс-фактора.

Этап 1. Формировали 9 экспериментальных групп. Особям контрольных групп (группы «контроль-1» (*n* = 10) и «контроль-2» (*n* = 10)) применяли растворитель (Р; дистиллирован-

ная вода, ДВ – здесь и далее) интраназально (и/н) или интрагастрально (и/г). Особи основных групп получали тетрапептид V-5, синтетический аналог С-концевого фрагмента аргинин-вазопрессина в дозах 0,02 (*n* = 8); 0,1 (*n* = 10); 0,5 (*n* = 9); 1,0 (*n* = 9); 5,0 (*n* = 7); 10,0 (*n* = 6) мкг/кг и/н или тофизопам в дозе 2,0 мг/кг и/г (*n* = 9). Спустя 30 мин после введения образцов проводили тестирование в ПКЛ, экспериментальные работы осуществлялись в феврале-марте в утренние часы (10.00–11.30). Источник освещения (здесь и на этапе 2) – лампа дневного света SL-36/26-735, на высоте 2,84 м от поверхности установки (уровень освещенности в каждом из ЗР – 116 и 119 лк; в ОР – 177 и 168 лк; в центре ПКЛ – 164 лк).

Этап 2. Для более детального изучения влияния V-5 на УТ в ПКЛ у мышей с различающимся исходным зоосоциальным статусом формировали 4 экспериментальных группы по 10 особей в каждой. Особям групп контроль-3 и контроль-4 назначали и/н Р, мышам основных групп применяли и/н V-5 в дозе 1,0 мкг/кг. V-5 и Р вводили непосредственно перед высадкой в ПКЛ (за 3–10 мин до начала эксперимента). Эксперименты проведены в августе–сентябре в утренние часы (08.00–11.00 ч) либо в дневные часы (15.00–18.00).

Статистическую обработку цифровых показателей проводили с использованием программного обеспечения Biostat 4.03 (Glantz, 1998). Для сравнения независимых выборок при наличии 3 и более групп использовали критерий Крускала–Уоллиса, двух – критерий Манна–Уитни, для сравнения зависимых выборок применяли критерий Фишера. Данные представляли в виде $X \pm Sx$.

Результаты. Данные исследований **этапа 1** приведены в табл. 1–6. Животные группы



Рис. 1. Сужение глазной щели у агрессивной мыши-самца ICR (1) перед атакой субмиссивной особи (2)

«контроль-1» предпочтали большую часть времени проводить в ЗР, в сравнении с ОР или центральной частью (67,2; 16,9; 15,9 % соответственно от общего времени нахождения в ПКЛ) (табл. 1, 3 и 5). Применение V-5 (0,02 или /и 0,1 мкг/кг) приводило к достоверному снижению T_{op} (табл. 1) и повышению T_{cl} (табл. 3), что расценивается как проявление анксиогенного эффекта. У животных группы «контроль-2» пребывание в ЗР, ОР и в центре составляло 77,8; 7,2 и 15,0 %.

D_{top} в сравнении с контролем-1 – $p < 0,05$ (рис. 2). Анксиогенное влияние V-5 (0,02 мкг/кг) проявлялось снижением N_{op} в сравнении с контролем-1 ($p < 0,05$) – см. табл. 2. При назначении V-5 в дозе 0,1 мкг/кг соответствующий эффект был статистически незначимым, а увеличение дозы до 0,5 мкг/кг сопровождалось утратой анксиогенного влияния: превышение числа N_{op} V-5 (0,5 мкг/кг) над N_{op} V-5 (0,02 мкг/кг) достигало уровня статистической значимости, однако существенно

Таблица 1 – Влияние тетрапептида V-5 на продолжительность пребывания лабораторных мышей в открытых рукавах лабиринта

Группа, доза, число животных	T_{op} / период наблюдения (мин.)						ЛП, с
	1	2	3	4	5	5 мин суммарно	
Контроль-1, Р, и/н, $n = 10$	8,4±4,5	12,4±5,3	6,6±3,2	8,7±3,3	14,6±5,0	50,7±13,5	102,0±29,2
V-5, 0,02 мкг/кг, и/н, $n = 8$	5,4±2,7	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	5,4±2,7*	163,4±51,6
V-5, 0,1 мкг/кг, и/н, $n = 10$	3,4±2,3	1,6±0,9	4,7±3,1	1,6±1,6	0,0±0,0	11,3±4,8*	176,6±37,8
V-5, 0,5 мкг/кг, и/н, $n = 9$	10,0±1,7	8,4±2,0	9,9±3,7	5,8±2,9	10,6±4,9	44,7±10,7*	69,2±29,0
V-5, 1,0 мкг/кг, и/н, $n = 9$	5,7±3,0	5,4±2,9	4,4±1,9	5,2±2,7	4,6±3,5	25,3±8,6	76,1±29,1
V-5, 5,0 мкг/кг, и/н, $n = 7$	13,0±8,0	3,3±1,6	0,4±0,4	1,3±0,8	0,4±0,3	18,4±9,9	148,9±54,1
V-5, 10,0 мкг/кг, и/н, $n = 6$	8,2±2,7	2,3±1,7	1,2±1,2	2,5±2,5	2,5±1,6	16,7±5,9	68,7±37,4
Контроль-2, Р, и/г, $n = 10$	7,4±3,0	3,9±2,2	1,8±1,1	4,2±1,8	4,4±2,1	21,7±5,7	118,2±35,8
Тофизопам, 2,0 мг/кг, и/г, $n = 9$	18,2±7,6	16,4±8,5	3,7±2,0	7,8±5,9	7,8±6,6	53,9±26,2	99,7±41,8

Примечание: * – различия статистически значимы в сравнении с контролем-1, # – с V-5, 0,02 мкг/кг; $p < 0,05$, критерий Крускала–Уоллиса с последующей обработкой методом апостериорных сравнений по критерию Данна.

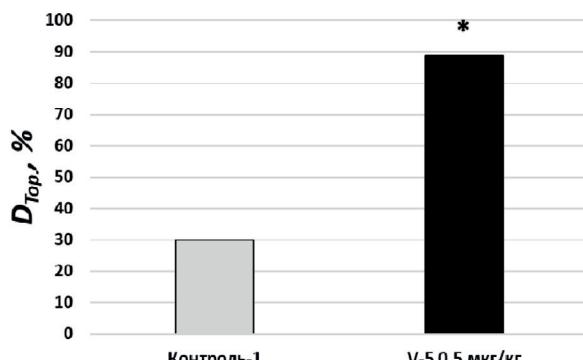
Применение тофизопама несущественно увеличивало продолжительность пребывания в ОР в сравнении с контролем-2 (18 и 7,2 % соответственно), $p > 0,05$ (табл. 1).

В первую минуту эксперимента (период наиболее высокого «стресса новизны») введение V-5 в дозе 0,5 мкг/кг снижало УТ, повышая

не превышало значения в контроле-1 (табл. 2). Тофизопам статистически достоверно не влиял на число заходов в открытые рукава лабиринта (табл. 2).

Мыши, получавшие тетрапептид в дозе 0,02 мкг/кг, с каждой последующей минутой стремились проводить больше времени в ЗР лабиринта ($p < 0,05$, критерий Фридмана); сходное поведение отмечено в случае введения V-5 в дозе 0,1 мкг/кг. Значения показателя T_{cl} у животных, которым применяли V-5 в дозах 0,5; 1,0; 5,0; 10,0 мкг/кг, существенно не отличались от таковых у особей контроля-1. Продолжительность пребывания в ЗР на 2-ой минуте возрастала в контроле-2 ($p < 0,05$), но не в группе, получавшей тофизопам (табл. 3).

Количество заходов в ЗР (N_{cl}), характеризующее общую двигательную активность, существенно снижалось в сравнении с исходным уровнем во 2, 3, 5 мин на фоне V-5, 0,02 мкг/кг ($p < 0,05$) (табл. 4), что могло быть связано с возрастанием УТ. Назначение V-5 дозах 0,1; 0,5; 1,0; 5,0 и 10,0 мкг/кг вело к активации поведения животных по критерию



* – различия статистически значимы в сравнении с контролем-1, $p < 0,05$, точный критерий Фишера

Рис. 2. Влияние V-5 (0,5 мкг/кг, и/н) на долю мышей ICR в популяции (D_{top}), находившихся в открытом рукаве лабиринта не менее 5 с в первую минуту наблюдения

Таблица 2 – Влияние тетрапептида V-5 на количество заходов в открытые рукава лабиринта

Группа, доза, число животных	N_{op} / период наблюдения (мин.)					
	1	2	3	4	5	5 мин суммарно
Контроль-1, Р, и/н, $n = 10$	0,7±0,3	0,7±0,3	0,3±0,2	0,6±0,2	0,8±0,2	3,1±0,6*
V-5, 0,02 мкг/кг, и/н, $n = 8$	0,8±0,4	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,8±0,4
V-5, 0,1 мкг/кг, и/н, $n = 10$	0,4±0,3	0,2±0,1	0,5±0,3	0,2±0,1	0,0±0,0	1,3±0,5
V-5, 0,5 мкг/кг, и/н, $n = 9$	1,2±0,2	1,0±0,3	0,9±0,3	0,7±0,4	0,7±0,3	4,4±1,0*
V-5, 1,0 мкг/кг, и/н, $n = 9$	0,6±0,2	0,7±0,3	0,6±0,2	0,3±0,2	0,2±0,1	2,3±0,5
V-5, 5,0 мкг/кг, и/н, $n = 7$	0,7±0,4	0,7±0,4	0,1±0,1	0,3±0,2	0,3±0,2	2,1±1,0
V-5, 10,0 мкг/кг, и/н, $n = 6$	1,0±0,3	0,3±0,2	0,2±0,2	0,2±0,2	0,3±0,2	2,0±0,6
Контроль-2, Р, и/г, $n = 10$	0,6±0,2	0,2±0,1	0,3±0,2	0,4±0,2	0,1±0,1	1,6±0,4
Тофизопам, 2,0 мг/кг, и/г, $n = 9$	0,7±0,2	0,2±0,1	0,2±0,1	0,3±0,2	0,2±0,1	1,7±0,6

Примечание: * – различия статистически значимы в сравнении с V-5, 0,02 мкг/кг; $p < 0,05$, критерий Крускала–Уоллиса, с последующей обработкой методом апостериорных сравнений по критерию Данна.

Таблица 3 – Влияние тетрапептида V-5 на продолжительность пребывания лабораторных мышей в закрытых рукавах лабиринта

Группа, доза, число животных	T_{cl} / период наблюдения (мин.)					
	1	2	3	4	5	5 мин суммарно
Контроль-1, Р, и/н, $n = 10$	36,3±6,2	42,2±6,3	47,4±5,8	37,5±5,3	38,3±6,5	201,7±24,8
V-5, 0,02 мкг/кг, и/н, $n = 8$	42,5±6,4	51,4±7,4*	51,6±7,4*	58,6±1,2**	59,0±0,9**	263,1±21,0*
V-5, 0,1 мкг/кг, и/н, $n = 10$	43,3±4,9	56,0±1,2*	51,4±4,2*	54,0±2,3	57,8±1,0**	262,5±7,1
V-5, 0,5 мкг/кг, и/н, $n = 9$	35,4±4,0	44,8±3,4	43,3±6,0	47,4±4,5	45,7±5,3	216,7±16,9
V-5, 1,0 мкг/кг, и/н, $n = 9$	33,9±5,8	40,0±7,6	46,7±6,4	46,8±6,5	46,7±5,5	214,0±25,3
V-5, 5,0 мкг/кг, и/н, $n = 7$	30,9±8,8	48,6±4,5	55,9±1,6	55,9±1,9	57,4±1,0	248,6±10,4
V-5, 10,0 мкг/кг, и/н, $n = 6$	43,2±4,1	55,0±3,2	55,5±3,9	52,0±5,1	51,0±3,5	256,7±12,6
Контроль-2, Р, и/г, $n = 10$	35,9±7,1	50,2±4,1*	48,7±4,0	46,5±3,3	52,1±3,6	233,4±12,5
Тофизопам, 2,0 мг/кг, и/г, $n = 9$	30,9±7,8	42,7±8,5	50,1±5,1	48,8±6,4	48,9±6,5	221,3±29,4

Примечание: * – различия статистически значимы в сравнении с контролем-1, $p < 0,05$, критерий Крускала–Уоллиса с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Данна; # – различия статистически значимы в сравнении с 1 мин, $p < 0,05$, критерий Фридмана с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Даннета.

«5 мин суммарно» (подвижность возрастила относительно уровня контроля-1 на 7,2; 15,9; 1,4; 1,4; 20,3 % соответственно). Вместе с тем, как и ожидалось, применение тофизопама

сопровождалось статистически незначимым снижением N_{cl} (на 25,4 % относительно уровня контроля-2), что свидетельствовало о несущественном седативном эффекте.

Таблица 4 – Влияние тетрапептида V-5 на количество заходов в закрытые рукава лабиринта

Группа, доза, число животных	N_{cl} / период наблюдения (мин.)					
	1	2	3	4	5	5 мин суммарно
Контроль-1, Р, и/н, $n = 10$	1,3±0,2	1,2±0,3	1,6±0,3	1,3±0,3	1,5±0,3	6,9±1,1
V-5, 0,02 мкг/кг, и/н, $n = 8$	1,8±0,5	0,1±0,1*	0,4±0,4*	0,4±0,2	0,4±0,3*	3,0±1,1
V-5, 0,1 мкг/кг, и/н, $n = 10$	1,7±0,2	1,4±0,3	1,4±0,3	1,8±0,3	1,1±0,3	7,4±1,0
V-5, 0,5 мкг/кг, и/н, $n = 9$	2,2±0,3	1,9±0,3*	0,8±0,3*	1,7±0,5	1,4±0,3	8,0±0,9
V-5, 1,0 мкг/кг, и/н, $n = 9$	1,7±0,3	1,3±0,4	1,7±0,6	1,0±0,4	1,3±0,4	7,0±1,7
V-5, 5,0 мкг/кг, и/н, $n = 7$	1,3±0,4	1,4±0,5	1,7±0,6	1,4±0,4	1,1±0,4	7,0±1,8
V-5, 10,0 мкг/кг, и/н, $n = 6$	2,5±0,4	1,3±0,7	1,0±0,5	1,7±0,7	1,8±0,6	8,3±2,2
Контроль-2, Р, и/г, $n = 10$	1,2±0,2	0,9±0,2*	1,6±0,4	1,6±0,4	1,4±0,3	6,7±1,2
Тофизопам, 2,0 мг/кг, и/г, $n = 9$	1,6±0,5	0,6±0,2	0,7±0,3	1,4±0,4	0,8±0,4	5,0±1,1

Примечание: * – различия статистически значимы в сравнении – с V-5, 0,02 мкг/кг; $p < 0,05$, критерий Крускала–Уоллиса с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Данна; # – различия статистически значимы в сравнении с 1 мин, $p < 0,05$, критерий Фридмана с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Даннета.

Продолжительность пребывания на ЦП достоверно снижалась в сравнении с контролем-1 при введении V-5 в дозе 0,02 мкг/кг на 4 и 5 мин. Кроме того, при назначении V-5 в дозе 0,1 мкг/кг T_{centr} уменьшалось на 2, 3 и 5 мин в сравнении с 1 мин; в дозе 0,5 мкг/кг – на 5 мин ($p < 0,05$). Очевидно, что синхронное возрастание T_{cl} и снижение T_{centr} на фоне V-5 характеризуют одно и то же состояние повышенной ситуационной тревожности в ПКЛ. Выявлено, что на 2-ой мин наблюдения тофизопам уменьшал значения указанного показателя в сравнении с контролем-2 ($p < 0,05$), что сопровождалось снижением T_{cl} ($p > 0,05$) (значения T_{cl} в контроле-2 увеличились, $p < 0,05$) и возрастанием T_{op} –т.е. тенденцией к снижению УТ (табл. 5). Количество свешиваний с ОР увеличилось в 1,3 раза на фоне введения V-5 (0,5 мкг/кг) в сравнении с контролем-1, что сопоставимо со значениями $N_{u.dip}$ при применении тофизопама (в 1,5 раза) ($p > 0,05$) (табл. 6).

Результаты исследований *этапа 2* приведены в табл. 7. Для выявления индивидуальной

чувствительности к эффектам тетрапептида V-5 (1,0 мкг/кг) эксперименты с грызунами подгрупп А, В и С проводили в утренние часы (08.00–11.00 ч) по схеме, использованной на этапе 1. Для получения дополнительной информации о возможных хронотропных аспектах регуляции УТ исследования с использованием такой же дозы V-5 на экспериментальных грызунах когорт А, В, С повторяли в дневные часы (15.00–18.00).

По данным литературы, в дневные часы крысы демонстрируют наибольшую тревожность и чувствительность к стрессу по сравнению с утренними и вечерними определениями; в этот же период времени максимальными оказываются специфические и хронотропные эффекты диазепама и грандаксина (Булгакова, 2012). Соединение V-5 не оказывало статистически значимого эффекта на поведение мышей ICR при оценке результатов у грызунов как в утренние (в сопоставлении с контролем-3), так и в дневные часы (в сопоставлении с контролем-4) – см. табл. 7.

Таблица 5 – Влияние тетрапептида V-5 на продолжительность пребывания лабораторных мышей на центральной площадке лабиринта

Группа, доза, число животных	T_{centr} / период наблюдения (мин.)					
	1	2	3	4	5	5 мин суммарно
Контроль-1, Р, и/н, $n = 10$	15,3±4,1	5,4±1,6	6,0±3,2	13,8±5,5	7,1±1,7	47,6±13,5
V-5, 0,02 мкг/кг, и/н, $n = 8$	12,1±4,5	8,6±7,4	8,4±7,4	1,4±1,2*	1,0±0,9*	31,5±18,9
V-5, 0,1 мкг/кг, и/н, $n = 10$	13,3±3,9	2,4±0,7 [#]	3,9±1,7 [#]	4,4±1,8	2,2±1,0 [#]	26,2±4,5
V-5, 0,5 мкг/кг, и/н, $n = 9$	14,6±4,0	6,8±2,1	6,8±2,7	6,8±2,2	3,8±1,1 [#]	38,7±7,9
V-5, 1,0 мкг/кг, и/н, $n = 9$	20,4±6,1	14,6±6,5	8,9±4,7	8,0±4,4	8,8±3,3	60,7±17,6
V-5, 5,0 мкг/кг, и/н, $n = 7$	16,1±5,3	8,1±3,1	3,7±1,6	2,9±1,1	2,1±0,8	33,0±4,5
V-5, 10,0 мкг/кг, и/н, $n = 6$	8,7±1,9	2,7±1,6	3,3±2,8	5,5±2,9	6,5±2,4	26,7±7,2
Контроль-2, Р, и/г, $n = 10$	16,7±5,1	5,9±2,6	9,5±4,0	9,3±3,2	3,5±1,8	44,9±10,8
Тофизопам, 2,0 мг/кг, и/г, $n = 9$	10,9±3,4	0,9±0,4 ⁰	6,2±3,3	3,4±1,2	3,3±1,7	24,8±5,1

Примечание: * – различия статистически значимы в сравнении с контролем-1, $p < 0,05$, критерий Крускала–Уоллиса с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Данна; ⁰ – различия статистически значимы в сравнении с контролем-2, $p < 0,05$, критерий Манна–Уитни; [#] – различия статистически значимы в сравнении с 1 мин, $p < 0,05$, критерий Фридмана с последующей обработкой данных методом апостериорных сравнений по критерию Даннета.

Таблица 6 – Влияние тетрапептида V-5 на количество свешиваний с открытых рукавов лабиринта

Группа, доза, число животных	$N_{u.dip}$ / период наблюдения (мин.)					
	1	2	3	4	5	5 мин суммарно
Контроль-1, Р, и/н, $n = 10$	0,5±0,3	1,1±0,5	0,4±0,3	0,9±0,3	1,1±0,6	4,0±1,4
V-5, 0,02 мкг/кг, и/н, $n = 8$	0,6±0,4	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,6±0,4
V-5, 0,1 мкг/кг, и/н, $n = 10$	0,6±0,4	0,2±0,2	0,6±0,4	0,0±0,0	0,0±0,0	1,4±0,8
V-5, 0,5 мкг/кг, и/н, $n = 9$	1,8±0,4	0,8±0,4	1,0±0,6	0,3±0,2	1,2±0,6	5,1±1,4
V-5, 1,0 мкг/кг, и/н, $n = 9$	0,3±0,2	0,2±0,1	0,2±0,1	0,1±0,1	0,0±0,0	0,9±0,3
V-5, 5,0 мкг/кг, и/н, $n = 7$	1,6±0,9	0,7±0,6	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	2,3±1,4
V-5, 10,0 мкг/кг, и/н, $n = 6$	0,8±0,3	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,2±0,2	1,0±0,3
Контроль-2, Р, и/г, $n = 10$	0,7±0,4	0,3±0,3	0,1±0,1	0,3±0,2	0,1±0,1	1,5±0,5
Тофизопам, 2,0 мг/кг, и/г, $n = 9$	1,1±0,6	0,7±0,6	0,1±0,1	0,1±0,1	0,2±0,1	2,2±1,1

Таблица 7 – Влияние тетрапептида V-5 (1,0 мкг/кг, и/н) на уровень тревожности мышей ICR в ПКЛ при проведении эксперимента в утренние и дневные часы

Группа, число животных	Результаты оценки уровня тревожности (показатели) / наблюдения (мин.)						
	1	2	3	4	5	5 мин суммарно	
утренние часы (08.00-11.00)							
	T_{op}					ЛП, с	
Контроль-3, Р, и/н ($n = 10$)	10,0±6,4	11,3±7,2	2,5±1,6	7,2±6,0	12,0±8,0	43,0±21,4	183,0±41,5
V-5, 1,0 мкг/кг ($n = 10$)	11,0±6,2	7,6±6,0	6,0±6,0	6,0±6,0	6,0±6,0	36,6±28,1	216,6±42,6
	T_{cl}						
Контроль-3 ($n = 10$)	33,0±7,5	40,7±8,9	46,1±7,8	47,1±7,9	47,6±7,9	214,5±37,4	
V-5, 1,0 мкг/кг ($n = 10$)	38,8±6,4	50,9±6,1	51,5±5,9	53,7±6,0	53,3±5,9	248,2±28,2	
	T_{centr}						
Контроль-3 ($n = 10$)	17,0±5,2	8,0±5,8	11,4±7,0	5,7±4,7	0,4±0,3	42,5±17,5	
V-5, 1,0 мкг/кг ($n = 10$)	10,2±2,5	1,5±1,1	2,5±1,6	0,3±0,3	0,7±0,5	15,2±2,6	
	N_{op}						
Контроль-3 ($n = 10$)	0,5±0,3	0,2±0,1	0,3±0,2	0,1±0,1	0,0±0,0	1,1±0,4	
V-5, 1,0 мкг/кг ($n = 10$)	0,4±0,2	0,2±0,2	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,6±0,4	
	N_{cl}						
Контроль-3 ($n = 10$)	0,8±0,2	0,5±0,3	0,4±0,2	0,4±0,3	0,1±0,1	2,2±0,8	
V-5, 1,0 мкг/кг ($n = 10$)	1,1±0,2	0,2±0,1	0,5±0,3	0,1±0,1	0,2±0,1	2,1±0,5	
	$N_{u.dip}$						
Контроль-3 ($n = 10$)	0,1±0,1	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,1±0,1	
V-5, 1,0 мкг/кг, ($n = 10$)	0,0±0,0	0,0±0,0	0,1±0,1	0,0±0,0	0,0±0,0	0,1±0,1	
дневные часы 15.00-18.00							
	T_{op}					ЛП, с	
Контроль-4 ($n = 10$)	6,7±5,6	6,7±3,5	10,4±6,6	5,0±2,9	1,7±1,2	30,5±13,6	181,8±40,8
V-5, 1,0 мкг/кг ($n = 10$)	12,6±4,1	12,7±6,9	3,1±1,6	0,4±0,4	0,0±0,0	28,8±10,9	80,4±29,4
	T_{cl}						
Контроль-4 ($n = 10$)	33,6±8,3	35,7±8,8	35,4±9,0	40,0±7,6	42,7±7,7	187,4±37,6	
V-5, 1,0 мкг/кг ($n = 10$)	31,5±7,0	41,6±7,2	45,0±6,2	48,0±4,6	48,3±5,9	214,4±22,9*	
	T_{centr}						
Контроль-4 ($n = 10$)	19,7±7,5	17,6±7,9	14,2±7,7	15,0±7,6	15,6±7,8	82,1±36,8	
V-5, 1,0 мкг/кг ($n = 10$)	15,9±4,2	5,7±2,6	11,9±4,7	11,6±4,7	11,7±5,9	56,8±17,8*	
	N_{op}						
Контроль-4 ($n = 10$)	0,2±0,1	0,5±0,2	0,4±0,3	0,4±0,2	0,1±0,1	1,6±0,6	
V-5, 1,0 мкг/кг ($n = 10$)	0,6±0,2	0,3±0,2	0,3±0,2	0,1±0,1	0,0±0,0	1,3±0,3*	
	N_{cl}						
Контроль-4 ($n = 10$)	1,2±0,3	0,6±0,3	0,4±0,2	0,7±0,3	1,0±0,5	3,9±1,6	
V-5, 1,0 мкг/кг ($n = 10$)	1,4±0,2	1,3±0,4	1,0±0,3	1,3±0,3	1,4±0,5	6,4±1,3*	
	$N_{u.dip}$						
Контроль-4 ($n = 10$)	0,2±0,2	0,0±0,0	0,2±0,2	0,2±0,2	0,0±0,0	0,6±0,4	
V-5, 1,0 мкг/кг ($n = 10$)	0,7±0,3	0,2±0,1	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,9±0,3	

Примечание: * – различия статистически значимы в сравнении с V-5 1,0 мкг/кг в утренние часы, $p < 0,05$, критерий Манна-Уитни.

В условиях тестирования грызунов в ПКЛ в дневные часы (15.00–18.00) после применения V-5 выявлены статистически достоверные изменения поведения мышей подгрупп (A + C) в сравнении с особями подгрупп (A + C) контроля-4 по $D_{ЛП}$. Быстро (<90 с) вышли в ОР ПКЛ 0 % (0 из 6 мышей) подгрупп (A + C) кон-

троля-4 против 85,7 % (6 из 7 грызунов) подгрупп (A + C) основной группы, $p = 0,005$, точный метод Фишера. Предположительно, влияние V-5 на УТ не селективно, изменения могут быть следствием общего активирующего действия соединения. Так, в дневные часы отмечено возрастание показателя N_{cl} на фоне

введения V-5 на 64 % в сравнении с контролем-4, $p > 0,05$ – см. табл. 7.

Существенно более выраженная активация поведения мышей по критериям N_{cl} , N_{op} , возрастание продолжительности T_{centr} и снижение T_{cl} отмечались при введении V-5 в дневные часы в сравнении с утренним периодом тестирования.

Экспериментальные данные, полученные на крысах Brattleboro, используемых в качестве модели врожденного дефицита вазопрессина, подтвердили гипотезу: изменения в поведении у этих крыс (в том числе сниженный УТ), вызваны изменением передачи сигналов вазопрессина на уровне головного мозга [5]. За последние десятилетия лишь в нескольких исследованиях изучались сопутствующие психические заболевания у пациентов с «дефицитом» АВП (AVP-D). У пациентов с указанной патологией часто выявляют нарушения тревожности, подавленное настроение, алекситимию (трудности в определении и словесном описании своих эмоций и чувств, а также чувств других людей), нарушения сна и снижение секреции влечения, снижение качества жизни, несмотря на адекватную терапию десмопрессином [7]. Кроме того, лица с AVP-D испытывают трудности с категоризацией эмоций при вос-

приятии выражения лица, личностные изменения и увеличение числа сопутствующих психосоциальных заболеваний, включая депрессию; отмечается социальная замкнутость. Дальнейшие исследования V-5 перспективны в плане разработки новых подходов к поиску средств терапии психических расстройств, возникающих на фоне «дефицита» АВП.

Заключение. Исследования продемонстрировали способность тетрапептида V-5, структурно родственного С-концевому аналогу фрагмента аргинин-вазопрессина, дозозависимо модифицировать ситуационную тревожность лабораторных мышей ICR. V-5 в низких дозах (0,02 мкг/кг и 0,1 мкг/кг) существенно повышал уровень тревожности (УТ). Снижение УТ по отдельным критериям на фоне V-5 (0,5 мкг/кг и 1,0 мкг/кг) может указывать на слабо выраженное анксиолитическое действие и/или усиление процессов адаптации к новой обстановке. У грызунов с полярным статусом в зоосоциальной иерархии (агрессивных либо избегавших контактирования) V-5 в дозе 1,0 мкг/кг способствовал активации поведения в условиях стресса в ПКЛ, более выраженное влияние тетрапептид оказывал в дневное (в сравнении с утренним) время суток.

Список цитированных источников

1. Cruz, A.P.M. An animal model of trait anxiety: Carioca high freezing rats as a model of generalized anxiety disorder [Electronic resource] / A.P.M. Cruz, V. Castro-Gomes, J. Landeira-Fernandez // Personality Neuroscience. – 2024. – Vol. 7. – P. 1–7. – Mode of access: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38384665/>. – Date of access: 08.06.2025.
2. Satao, K.S. Anxiety and the brain: Neuropeptides as emerging factors [Electronic resource] / K.S. Satao, G.M. Doshi // Pharmacology Biochemistry and Behavior. – Vol. 245. – Art. 173878. – Mode of access: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0091305724001722>. – Date of access: 08.06.2025.
3. Об утверждении клинических протоколов [Электронный ресурс]: постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь, 8 нояб. 2022 г., № 108 // Национальный правовой Интернет-портал Республики Беларусь. – Режим доступа: <https://pravo.by/document/?guid=12551&p0=W22339960p>. – Дата доступа: 08.06.2025.
4. Effects of arginine vasopressin on human anxiety and associations with sex, dose, and V1a-receptor genotype / R. R. Thompson [et. al] // Psychopharmacology. – 2024. – Vol. 241, – P. 1177–1190. doi:10.1007/s00213-024-06551-7
5. Vasopressinergic control of stress-related behavior: studies in Brattleboro rats / P. Csikota [et. al] // Stress. – 2016. – Vol. 19, № 4. P. 349–361. doi: 10.1080/10253890.2016.1183117.
6. Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств / Т.А. Воронина [и др.] // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. А.Н. Миронова – М : Гриф и К, 2012. – Гл. 16. – С. 264–275.
7. Refardt, J. New insights on diagnosis and treatment of AVP deficiency / J. Refardt, C. Atila, M. Christ-Crain // Rev Endocr Metab Disord. – 2024. – Vol. 25, № 3. – P. 639–649. doi: 10.1007/s11154-023-09862-w

STUDY OF DOSE-DEPENDENT EFFECTS OF V-5 IN THE ELEVATED PLUS MAZE TEST

Savanets O. N., Kravchenko E. V., Sikita D. V., Borodina K. V., Gribovskaya O. V.

Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

The subject of the study was to assess the effect of tetrapeptide V-5, structurally related to the C-terminal analogue of the arginine vasopressin (AVP) fragment, on state anxiety. The studies were conducted using the elevated plus maze (EPM) technique with or without preliminary ranking of animals. It was shown that compound V-5 in low doses (0.02 µg/kg and 0.1 µg/kg) significantly increased the anxiety level (AL). A decrease in AL in individual indicators against the background of V-5 (0.5 µg/kg and 1.0 µg/kg) may indicate a weakly expressed anxiolytic effect and/or an increase in the processes of adaptation to a new environment.

Keywords: tetrapeptide V-5; arginine vasopressin; state anxiety; mice.