

УДК 577.112.657.026

## ВЛИЯНИЕ ФРАГМЕНТА АКТГ<sub>15-18</sub> И ЕГО АНАЛОГА АКТГ<sub>15-18</sub>PRO-GLY-PRO НА ПОСЛЕДСТВИЯ ОСТРОГО СТРЕССОГЕННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

© 2022 г. Д. М. Манченко<sup>1</sup>, Н. Ю. Глазова<sup>2</sup>, Е. А. Себенцова<sup>2</sup>, Л. А. Андреева<sup>2</sup>, О. В. Долотов<sup>1,2</sup>, А. А. Каменский<sup>1</sup>, Н. Ф. Мясоедов<sup>2</sup>, Н. Г. Левицкая<sup>1</sup>, \*

<sup>1</sup>Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биологический факультет, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт молекулярной генетики Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”, Москва, Россия

\*e-mail: [nlevitskaya@gmail.com](mailto:nlevitskaya@gmail.com)

Поступила в редакцию 29.11.2021 г.

После доработки 21.01.2022 г.

Принята к публикации 26.04.2022 г.

Тетрапептид KKRR, соответствующий последовательности АКТГ<sub>15-18</sub>, является самым коротким фрагментом, который с высоким сродством связывается с рецептором АКТГ, не активирует этот рецептор и препятствует связыванию с ним молекулы целого гормона, следовательно, проявляет свойства антагониста рецептора АКТГ. Целью работы было изучение влияния пептида АКТГ<sub>15-18</sub> (KKRR) и его аналога АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на поведение крыс Wistar в норме и после острого стресса, вызванного неизбежным электроболевым раздражением. Было показано, что исследованные пептиды не влияют на уровень тревожности белых крыс в норме. Предварительное введение АКТГ<sub>15-18</sub> (250 мкг/кг) и его аналога АКТГ<sub>15-18</sub>PGP (50 и 250 мкг/кг) приводит к снижению тревожности и уменьшению выброса кортикостерона у крыс, перенесших однократное электроболевое раздражение. Выраженность и длительность антистрессорных эффектов препарата АКТГ<sub>15-18</sub>PGP значительно превышает выраженность и длительность эффектов его природного прототипа.

**Ключевые слова:** фрагменты АКТГ, АКТГ<sub>15-18</sub>PGP, острый стресс, электроболевое раздражение, тревожность, кортикостерон, крысы

DOI: 10.31857/S0044467722040074

### ВВЕДЕНИЕ

Стрессогенное воздействие вызывает в организме человека и животных каскад нейрохимических реакций, приводящих, в частности, к повышению толерантности к боли и изменению поведения. В ответ на действие стрессора повышается уровень гормонов гипоталамо-гипофизарно-адреналовой (ГГА) оси, происходит активация различных нейротрансмиттерных систем мозга. В развитие стрессорного ответа вовлечены опиоидная, серотонинергическая, дофаминергическая, ГАМК-ергическая и другие системы (O'Connor et al., 2000). ГГА-ось является важнейшим звеном в реализации реакции организма на стрессор. В ответ на воздействие клетки гипоталамуса выделяют кортикотропин-рилизинг-гормон, который стимулирует секрецию адренотропного гормона (АКТГ) гипофизом. АКТГ воздействует на кору надпочеч-

ников, что приводит к быстрому увеличению продукции кортикостероидов (Розен, 1994). Выброс в кровь кортикостероидов индуцирует генерализованную реакцию, способствующую приспособлению организма к изменениям окружающей среды. Однако очень интенсивная и/или продолжительная стрессорная реакция может стать патогенетической основой для различных заболеваний (депрессия, тревожность и посттравматические стрессовые расстройства) (Schwabe, 2017; Floriou-Servou et al., 2021). У животных, перенесших стрессорное воздействие, наблюдается снижение исследовательской активности, увеличение уровня тревожности и страха (Pijlman, Van Ree, 2002).

АКТГ является единственным пептидом, обладающим выраженной кортикотропной активностью (Raffin-Sanson et al., 2003). По своей структуре и происхождению АКТГ от-

носится к семейству меланокортинов (МС), которое также включает в себя меланоцит-стимулирующие гормоны ( $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -МСГ). МС образуются из общего белка предшественника – проопиомеланокортина (Gantz, Fong, 2003; Yang, Harmon, 2020). Молекулы МС филогенетически очень древние и характеризуются высокой степенью консервативности (Catania, Lipton, 1993; Costa et al., 2005). В настоящее время выделено 5 типов рецепторов МС: МС1R – МС5R. Все МСR являются семидоменными трансмембранными рецепторами, сопряженными с G-белками (Starowicz, Przewlocka, 2003; Fridman et al., 2017). Все эндогенные МС содержат в своей структуре общую последовательность – фармакофор HFRW, соответствующий фрагменту АКТГ<sub>6-9</sub>, который необходим для связывания с МСR (Starowicz, Przewlocka, 2003; Davis et al., 2019). Все эндогенные МС способны связываться со всеми меланокортиновыми рецепторами за исключением меланокортинового рецептора 2-го типа (МС2R). Единственным известным эндогенным лигандом МС2R является молекула АКТГ (Catania et al., 2004; Yang, Harmon, 2020). МС2R представлены на мембранах клеток коры надпочечников в виде гексамерного комплекса, состоящего из двух молекул рецептора и четырех молекул адапторных белков MRAP (melanocortin receptor-associated protein), которые обеспечивают транспорт МС2R к мембране клетки и проведение сигнала от АКТГ (Gallo-Payet et al., 2017; Ghaddhab et al., 2017; Clark, Chan, 2019). Связывание АКТГ с МС2R стимулирует аденилатциклазу, которая вызывает увеличение продукции сАМР в клетке, что приводит к активации протеинкиназы А, которая индуцирует экспрессию ферментов, участвующих в биосинтезе стероидов (Catania et al., 2004; Gallo-Payet et al., 2017).

Как и для всех МСR, для активации МС2R необходимо присутствие в структуре пептида фармакофора HFRW (смысловой последовательности). Эта последовательность имеется как в АКТГ, так и во всех МСГ. Тем не менее для МС2R высокоспецифичным лигандом является только АКТГ, но не МСГ, что предполагает наличие в молекуле АКТГ другого, специфичного только для МС2R, участка связывания. Исследования показали, что МС, в которых отсутствует последовательность ККRR (АКТГ<sub>15-18</sub>), лишены кортикотропной активности (Fridman et al., 2017). За-

мена в молекуле АКТГ<sub>1-24</sub> одной из четырех аминокислот в последовательности ККRR на аланин приводила к резкому падению кортикотропной активности гормона (Costa et al., 2005). Последовательность ККRR была определена как адресная, необходимая для специфического связывания АКТГ с МС2R (Ghaddhab et al., 2017; Gallo-Payet et al., 2017). Активация МС2R требует взаимодействия между двумя фармакофорами гормона (HFRW и ККRR) и соответствующими им местами связывания на рецепторе (Ghaddhab et al., 2017; Davis et al., 2019; Yang, Harmon, 2020). Сайт связывания фармакофора HFRW формируется трансмембранными доменами ТМ2, ТМ3 и ТМ6, а фармакофора ККRR – ТМ4/5 и внеклеточной петлей ЕС2 (Davis et al., 2019). Предполагается, что внеклеточная часть МС2R может образовывать структуру, закрывающую сайт связывания фармакофора HFRW. Взаимодействия с белком MRAP и фармакофором ККRR вызывают конформационные изменения рецептора, приводящие к открытию этого сайта (Fridman et al., 2017). Таким образом, для активации МС2R необходимы обе последовательности: связывание адресной последовательности ККRR с рецептором позволяет смысловой последовательности HFRW взаимодействовать с МС2R и активировать его (Gallo-Payet et al., 2017).

Исследования показали, что тетрапептид ККRR (АКТГ<sub>15-18</sub>) является самым коротким фрагментом, который с высоким сродством связывается с МС2R, препятствует связыванию целой молекулы гормона с рецептором и не стимулирует продукцию сАМР, т.е. является антагонистом МС2R (Kovalitskaya et al., 2007; Ковалицкая и др., 2008). Эксперименты *in vivo* показали, что введение пептида ККRR за сутки до стрессогенного воздействия предотвращает стресс-вызванное возрастание уровня кортикостерона у крыс (Садовников и др., 2009). Однако исследования влияния этого пептида на поведение животных не проводились. Существенным недостатком природных МС является малая продолжительность их действия. Ранее было показано, что присоединение последовательности, обогащенной пролином, к природным пептидам, обладающим нейротропной активностью, приводит к увеличению выраженности действия и пролонгации их эффектов (Ашмарин и др., 1997; Kolomin et al., 2011). Это позволило предположить, что присоединение

последовательности Pro-Gly-Pro к природному фрагменту АКТГ<sub>15-18</sub> приведет к увеличению выраженности его эффектов.

Целью представленной работы было изучение эффектов пептида АКТГ<sub>15-18</sub> (KKRR) и его аналога АКТГ<sub>15-18</sub>PGP. Исследовалось влияние этих пептидов на уровень тревожности крыс в норме, а также на изменения поведения, болевой чувствительности и содержания кортикостерона в сыворотке крови крыс, перенесших острое стрессогенное воздействие (неизбегаемое электроболевое раздражение).

### МЕТОДИКА

Работа выполнена на крысах Wistar массой 200–250 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария с соблюдением 12-часового светового режима (искусственное освещение с 9–00 до 21–00) и со свободным доступом к воде и пище. Исследование проведено с соблюдением биоэтических норм обращения с экспериментальными животными в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента от 22.09.2010 г.

В работе были использованы пептиды KKRR (АКТГ<sub>15-18</sub>) и KKRRPGP (АКТГ<sub>15-18</sub>PGP), синтезированные в Институте молекулярной генетики Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”. Пептиды вводили внутривенно в водном растворе из расчета 1 мл/кг массы тела, АКТГ<sub>15-18</sub> — в дозе 250 мкг/кг, АКТГ<sub>15-18</sub>PGP — в дозах 50 и 250 мкг/кг. Контрольным животным вводили эквивалентный объем дистиллированной воды в соответствующие сроки.

Было проведено 5 независимых серий экспериментов. В первой серии исследовали влияние пептидов на показатели поведения крыс в норме. Было использовано 4 группы крыс (12 крыс в каждой группе): группа “Контроль” (животные получали инъекции растворителя в соответствующее время); группа “АКТГ<sub>15-18</sub>–250”, группа “АКТГ<sub>15-18</sub>PGP–50” и группа “АКТГ<sub>15-18</sub>PGP–250” (крысы получали инъекции соответствующего пептида в указанной дозе). Через 60 мин после введения препаратов изучали поведение животных в тесте ПКЛ, а через 24 часа после инъекции — в тесте “О-образный лабиринт”.

В остальных сериях экспериментов (2–5) изучали влияние пептидов на последствия

острого стресса. В каждой серии было использовано по 5 групп крыс: группа “Контроль” (животные получали инъекции растворителя в соответствующее время и не подвергались стрессогенному воздействию), группа “Стресс” (крысы получали инъекции растворителя в соответствующее время и подвергались неизбежному электроболевому раздражению), группа “АКТГ<sub>15-18</sub>–250 + Стресс”, группа “АКТГ<sub>15-18</sub>PGP–50 + Стресс” и группа “АКТГ<sub>15-18</sub>PGP–250 + Стресс” (крысы получали инъекции соответствующего пептида в указанной дозе и подвергались неизбежному электроболевому раздражению).

Во второй и третьей сериях экспериментов оценивали влияние пептидов на изменения поведения, вызванные стрессогенным воздействием. Препараты вводили за 30 мин или за 20 часов до начала стрессогенного воздействия соответственно. Через 30 мин после окончания действия стрессора оценивали поведение крыс в тесте ПКЛ, а через 24 ч — в тесте “О-образный лабиринт”. В каждой группе в каждой серии было по 14 крыс. В четвертой серии экспериментов изучали влияние пептидов на стресс-вызванное изменение болевой чувствительности. Пептиды вводили за 30 мин до начала действия стрессора. В каждой группе было по 10 крыс. В пятой серии экспериментов оценивали влияние пептидов на содержание кортикостерона в сыворотке крови. Пептиды вводили за 20 ч до стресса. В каждой группе было по 7–8 крыс.

*Модель острого стрессогенного воздействия.* В качестве стрессогенного воздействия использовали неизбежное электроболевое раздражение. Крыс индивидуально помещали в экспериментальную камеру с решетчатым полом, соединенным с электро-стимулятором ЭСЛ-1. Электрическое раздражение наносили в течение 10 мин (10 сек тока с интервалом 20 сек) при частоте 200 Гц и длительности импульса 0.5 мсек. Напряжения варьировались от 60 до 100 В в зависимости от появления вокализации. Крысы контрольной группы оставались в домашней клетке.

Для оценки уровня тревожности крыс использовали тесты “Приподнятый крестообразный лабиринт” и “О-образный лабиринт”.

*Тест “Приподнятый крестообразный лабиринт”* (ПКЛ). Экспериментальная камера лабиринта (НПК “Открытая Наука”, Россия) состоит из четырех расходящихся из центра

рукавов (длина рукавов — 50 см, ширина — 15 см, высота стенок — 30 см). Два противоположных рукава закрыты с 3 сторон стенками и затемнены (10 лк); два других открыты и ярко освещены (450 лк). Лабиринт устанавливали на высоте 80 сантиметров от пола. Крысу помещали в центр лабиринта и в течение 5 минут визуально регистрировали время нахождения в открытых и закрытых рукавах лабиринта, количество заходов в открытые и закрытые рукава, суммарное число заходов в рукава лабиринта, число стоек и свешиваний с открытых рукавов.

*Тест “О-образный лабиринт”.* Лабиринт (НПК “Открытая Наука”, Россия) представляет собой замкнутый круговой коридор шириной 10 см и диаметром 105 см, размещенный на высоте 70 см от пола. Лабиринт разделен на 4 равных сектора, 2 противоположных сектора закрыты с боков стенками (высота 28 см), а два других открыты. Тестирование проводилось при равномерном неярком освещении (50 лк). В начале тестирования крысу помещали в закрытый сектор, далее в течение 5 мин визуально регистрировали латентный период выхода из закрытого сектора, время, проведенное в открытых секторах, число заходов в открытый сектор, число свешиваний и стоек.

*Тест “Сдавливание задней лапы”.* Величину болевого порога крыс до и после стресса измеряли в тесте “Сдавливание задней лапы”, в котором болевым раздражителем служит равномерно нарастающее давление на заднюю конечность. Измерение проводилось с помощью анальгезиметра фирмы “Ugo Basile” (Италия). Уровень болевой чувствительности определяли по величине давления на конечность в момент отдергивания лапы. Давление измерялось в условных единицах прибора, одна условная единица соответствует увеличению нагрузки на 20 г/см<sup>2</sup>. Максимальная нагрузка на конечность составляла 25 условных единиц. До введения препаратов проводили три измерения исходной болевой чувствительности. При анализе результатов для вычисления фоновой болевой чувствительности исходные значения усредняли. После окончания стрессогенного воздействия проводили 4 измерения болевой чувствительности с интервалом 15 мин. При статистической обработке данных для каждого животного при каждом измерении вычисляли изменение болевой чувствительности относительно фоновых значений.

*Измерение уровня кортикостерона в сыворотке крови.* Пробу крови брали из боковой хвостовой вены животных в объеме около 100 мкл. Для предотвращения образования тромбов в игле перед забором крови шприц промывали раствором цитрата натрия. Пробы крови выдерживали 20 мин при 37°C, затем 60 мин при 4°C. Далее пробы центрифугировали 10 мин при 5000 оборотах и отбирали сыворотку. В дальнейшем в образцах сыворотки определяли уровень кортикостерона с помощью набора для определения кортикостерона в биологических жидкостях (Corticosterone EIA Kit, Catalog № ADI-900-097, Enzo). Уровень кортикостерона измеряли за 30 мин до (базовый уровень) и через 10 и 45 мин после окончания стрессогенного воздействия. При статистической обработке данных для каждого животного при каждом измерении вычисляли изменение уровней кортикостерона относительно исходного уровня.

*Статистическая обработка данных.* Обработка результатов производилась с помощью пакета статистических программ “Statistica-10”. Для каждой выборки проводили оценку нормальности распределения с помощью критерия Шапиро–Уилка. Если распределение выборок соответствовало нормальному, для оценки результатов использовали метод дисперсионного анализа (ANOVA). При сравнении базового уровня кортикостерона применяли однофакторный ANOVA для фактора ГРУППА, при оценке изменений болевого порога и изменений уровня кортикостерона — ANOVA для повторных измерений для факторов ГРУППА и ВРЕМЯ ИЗМЕРЕНИЯ. В случае достоверного влияния выбранных факторов или их взаимодействия проводили post hoc анализ с использованием критерия Фишера (Fisher LSD test). В случае ненормального распределения отличия между группами оценивали с помощью критерия Краскела–Уоллеса, с последующим применением *U*-критерия Манна–Уитни (оценка поведения крыс в тестах ПКЛ и “О-образный лабиринт”). Данные на рисунках представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка среднего для нормально распределенных данных или в виде медианы и интерквартильного размаха с минимумом и максимумом значений при ненормальном распределении данных в выборках. Отличия считали достоверными при  $p < 0.05$ .

**Таблица 1.** Влияние АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на уровень тревожности крыс  
**Table 1.** Effects of АСТН<sub>15-18</sub> and АСТН<sub>15-18</sub>PGP on the anxiety level in rats

Группа/Показатель	Контроль	АКТГ <sub>15-18</sub> 250 мкг/кг	АКТГ <sub>15-18</sub> PGP 50 мкг/кг	АКТГ <sub>15-18</sub> PGP 250 мкг/кг	H (3, N = 48); (p)
Тест “Приподнятый крестообразный лабиринт” (через 1 ч после введения)					
Время в открытых рукавах	15.0 (1.0; 41.0)	11.5 (7.5; 45.0)	27.5 (8.0; 39.5)	14.5 (0.0; 39.5)	1.52 (0.68)
Время в закрытых рукавах	251.5 (198.5; 264.5)	248.0 (201.0; 267.0)	229.5 (198.0; 257.5)	250.5 (233.5; 293.0)	0.52 (0.91)
Заходы в открытые рукава	1.0 (0.5; 3.0)	1.0 (1.0; 2.5)	2.0 (1.0; 2.5)	1.0 (0.0; 3.0)	0.42 (0.94)
Заходы суммарные	8.0 (5.0; 10.0)	6.0 (3.5; 8.0)	7.5 (4.5; 10.0)	5.0 (2.0; 9.0)	2.80 (0.42)
Свешивания	2.0 (1.0; 4.0)	4.5 (2.0; 6.0)	2.5 (1.0; 2.5)	2.5 (0.0; 5.5)	2.19 (0.50)
Стойки	9.0 (7.5; 12.0)	8.0 (6.5; 10.5)	10.0 (9.5; 13.0)	11.0 (9.5; 12.0)	4.97 (0.17)
Тест “О-образный лабиринт” (через 24 ч после введения)					
ЛП захода	57.5 (16; 300)	81.5 (33.5; 210)	57.5 (20.0; 274)	52.0 (15.0; 162)	0.55 (0.91)
Время в открытых секторах	15.0 (0.0; 64.5)	14.5 (7.5; 31.0)	13.5 (2.0; 51.0)	24.5 (6.0; 42.0)	0.22 (0.97)
Заходы в открытые сектора	1.5 (0.0; 6.0)	1.0 (1.0; 3.0)	1.0 (0.5; 6.0)	2.0 (1.0; 4.0)	0.30 (0.96)
Свешивания	1.0 (0.0; 3.5)	1.0 (0.0; 2.0)	2.0 (0.5; 3.5)	1.0 (0.0; 3.5)	1.90 (0.60)
Стойки	7.0 (5.0; 10.5)	7.0 (5.0; 10.0)	10.0 (6.5; 12.0)	8.0 (5.5; 11.0)	1.48 (0.69)

Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха. Число крыс в каждой группе  $n = 12$ .  
 The data are shown as median and interquartile range.  $n = 12$  rats/group.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### *Влияние пептидов АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на поведение животных в норме*

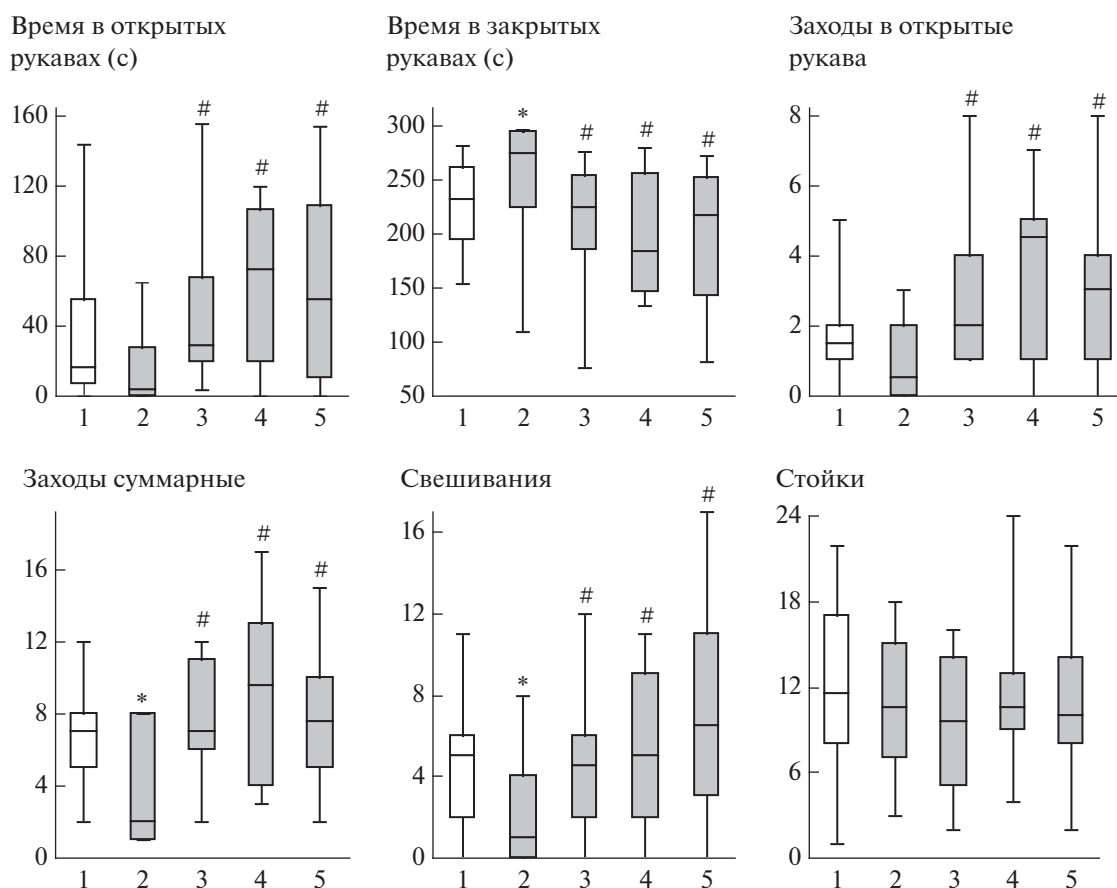
В первой серии опытов для оценки влияния пептидов на уровень тревожности и исследовательскую активность крыс через 60 мин после введения препаратов изучалось поведение животных в тесте ПКЛ, а через 24 часа после инъекции – в тесте “О-образный лабиринт”. Нами не было выявлено значимого влияния фактора ГРУППА для параметров поведения животных в данных тестах (критерий Краскела–Уоллеса– $H < 4.8$ ;  $p > 0.15$ ; табл. 1).

### *Влияние пептидов АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на стресс-вызванные изменения поведения*

Во второй и третьей сериях экспериментов нами исследовалось влияние АКТГ<sub>15-18</sub> и

АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на изменения поведения животных, вызванные стрессогенным воздействием.

Во второй серии опытов пептиды вводили за 30 мин до начала стрессогенного воздействия. Через 30 мин после стресса изучали поведение крыс в тесте ПКЛ. Применение критерия Краскела–Уоллеса выявило статистически значимые отличия между группами по таким показателям, как время, проведенное в открытых и закрытых рукавах, число заходов в открытые рукава, суммарное число заходов в рукава и число свешиваний с открытых рукавов лабиринта ( $H(4, N = 70) > 10.0$ ;  $p < 0.04$ ). Не было отмечено значимых различий между группами по числу стоек ( $H = 1.3$ ;  $p = 0.86$ ). Дальнейший анализ показал, что в группе “Стресс” время, проведенное в закрытых рукавах, было статистически значимо больше, а суммарное число заходов в



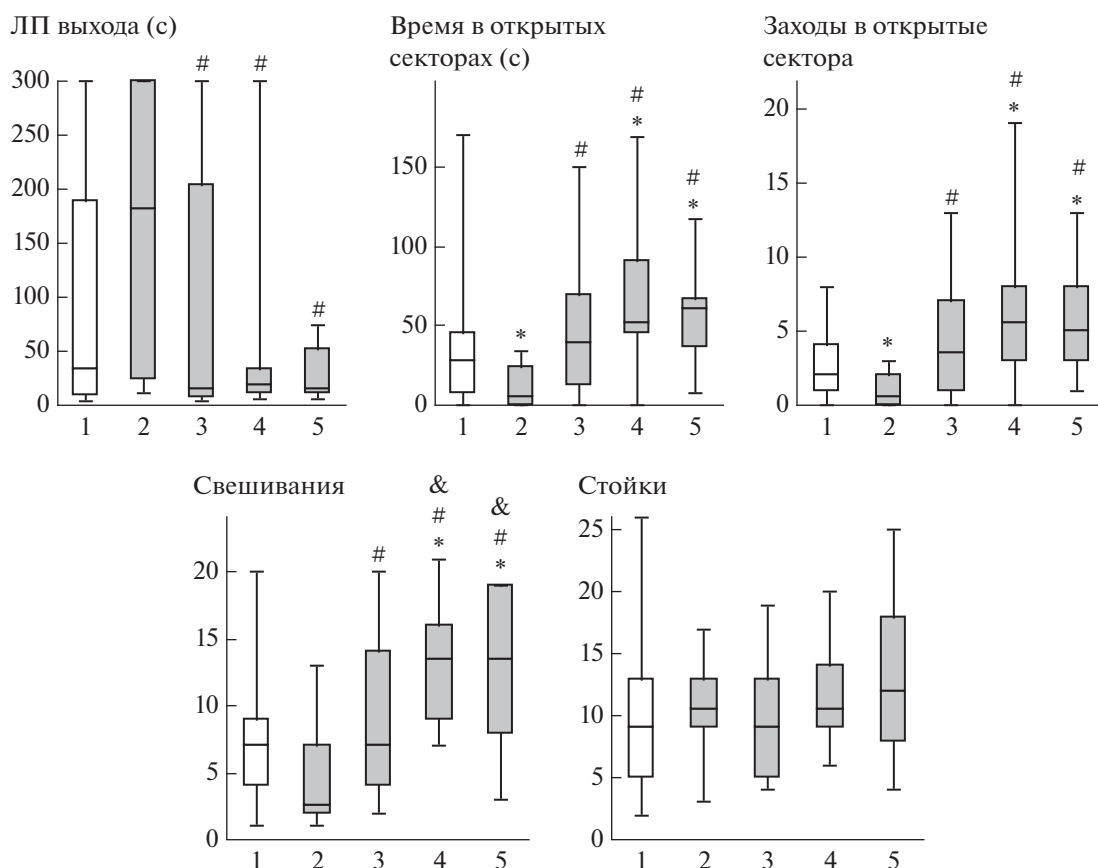
**Рис. 1.** Влияние АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на стресс-вызванные изменения поведения крыс в тесте “Приподнятый крестообразный лабиринт” через 30 мин после окончания электрошокового раздражения. Группы крыс: 1 – Контроль; 2 – Стресс; 3 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub> (250 мкг/кг); 4 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub>PGP (50 мкг/кг); 5 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub>PGP (250 мкг/кг). Пептиды вводили за 30 мин до стресса. В каждой группе по 14 крыс. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха и минимального и максимального значений. Статистически значимые отличия от контроля отмечены \* ( $p < 0.05$ ), от группы Стресс – # ( $p < 0.05$ ).

**Fig. 1.** Effects of ACTH<sub>15-18</sub> and ACTH<sub>15-18</sub>PGP on stress-induced behavioral alterations in elevated plus maze 30 min after acute foot shock. Groups of rats: 1 – Control; 2 – Stress; 3 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub> (250  $\mu$ g/kg); 4 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub>PGP (50  $\mu$ g/kg); 5 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub>PGP (250  $\mu$ g/kg). The peptides were administrated 30 min before stress.  $n = 14$  rats/group. The data are shown as median and interquartile range with minimum and maximum values. Significant differences vs Control marked \* ( $p < 0.05$ ); differences vs Stress – # ( $p < 0.05$ ).

рукава лабиринта и число свешиваний с открытых рукавов лабиринта было значимо меньше, чем в группе “Контроль” ( $p < 0.05$ ) (рис. 1). Во всех группах крыс, получавших инъекции пептидов до стрессогенного воздействия, значимых отличий от группы “Контроль” отмечено не было ( $p > 0.10$ ). В группах “АКТГ<sub>15-18</sub>–250 + Стресс”, “АКТГ<sub>15-18</sub>PGP–50 + Стресс” и “АКТГ<sub>15-18</sub>PGP–250 + Стресс” время, проведенное в закрытых рукавах, было статистически значимо меньше, а время в открытых рукавах, число заходов в открытые рукава, суммарное число заходов в рукава и число свешиваний – значи-

мо больше, чем в группе “Стресс” ( $p < 0.01$ ) (рис. 1). Значимых различий между группами “АКТГ<sub>15-18</sub>–250 + Стресс”, “АКТГ<sub>15-18</sub>PGP–50 + Стресс” “АКТГ<sub>15-18</sub>PGP–250 + Стресс” зарегистрировано не было ( $p > 0.30$ ).

Через 24 часа после стрессогенного воздействия крыс тестировали в О-образном лабиринте. Критерий Краскела–Уоллиса выявил статистически значимые различия между группами по таким показателям, как время, проведенное в открытых секторах, число заходов в открытые сектора и число свешиваний ( $H(4, N = 70) > 19.0$ ;  $p < 0.001$ ), а также изменение латентного периода (ЛП)



**Рис. 2.** Влияние АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на стресс-вызванные изменения поведения крыс в тесте “О-образный лабиринт” через 24 часа после окончания электрошокового раздражения. Группы крыс: 1 – Контроль; 2 – Стресс; 3 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub> (250 мкг/кг); 4 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub>PGP (50 мкг/кг); 5 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub>PGP (250 мкг/кг). Пептиды вводили за 30 мин до стресса. В каждой группе по 14 крыс. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха и минимального и максимального значений. Статистически значимые отличия от контроля отмечены \* ( $p < 0.05$ ), от группы Стресс – # ( $p < 0.05$ ), от группы Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub> – & ( $p < 0.05$ ).

**Fig. 2.** Effects of ACTH<sub>15-18</sub> and ACTH<sub>15-18</sub>PGP on stress-induced behavioral alterations in O-maze test 24 h after acute foot shock. Groups of rats: 1 – Control; 2 – Stress; 3 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub> (250 µg/kg); 4 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub>PGP (50 µg/kg); 5 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub>PGP (250 µg/kg). The peptides were administrated 30 min before stress.  $n = 14$  rats/group. The data are shown as median and interquartile range with minimum and maximum values. Significant differences vs Control marked \* ( $p < 0.05$ ); differences vs Stress – # ( $p < 0.05$ ); differences vs Stress + ACTH<sub>15-18</sub> – & ( $p < 0.05$ ).

захода в открытый сектор на уровне тенденции ( $H = 8.93$ ;  $p = 0.063$ ). По числу стоек значимых различий между группами отмечено не было ( $H = 2.4$ ;  $p = 0.67$ ). В группе “Стресс” время в открытых секторах и число заходов в открытые сектора было статистически значимо меньше ( $p < 0.025$ ), а ЛП захода в открытый сектор и число свешиваний были снижены на уровне тенденции ( $p < 0.065$ ) по сравнению с группой “Контроль” (рис. 2). Во всех группах крыс, получавших инъекции пептидов до стрессогенного воздействия, время, проведенное в открытых секторах, число заходов в открытые сектора и число свешива-

ний было статистически значимо больше, чем в группе “Стресс” ( $p < 0.02$ ). В группах животных, получавших инъекцию пептида АКТГ<sub>15-18</sub>PGP в обеих дозах, время, проведенное в открытых секторах, число заходов в открытые сектора и свешиваний статистически значимо превышало соответствующие значения в группе “Контроль” ( $p < 0.04$ ). Кроме того, число свешиваний в этих группах было значимо больше, чем в группе “АКТГ<sub>15-18</sub>–250 + Стресс” ( $p < 0.05$ ).

Таким образом, использованное стрессогенное воздействие приводило к увеличению уровня тревожности животных как через

30 мин, так и через 24 часа после окончания стресса. Введение пептидов АКТГ<sub>15-18</sub> или АКТГ<sub>15-18</sub>РGP за 30 мин до стресса снижало стресс-вызванную тревожность у крыс в тестах ПКЛ и “О-образный лабиринт”. Кроме того, в группах крыс, получавших инъекции АКТГ<sub>15-18</sub>РGP в обеих дозах, через сутки после стресса уровень тревожности был снижен относительно группы “Контроль”. Следовательно, при введении за 30 мин до стресса исследуемые пептиды нормализовали уровень тревожности у крыс, перенесших стресс.

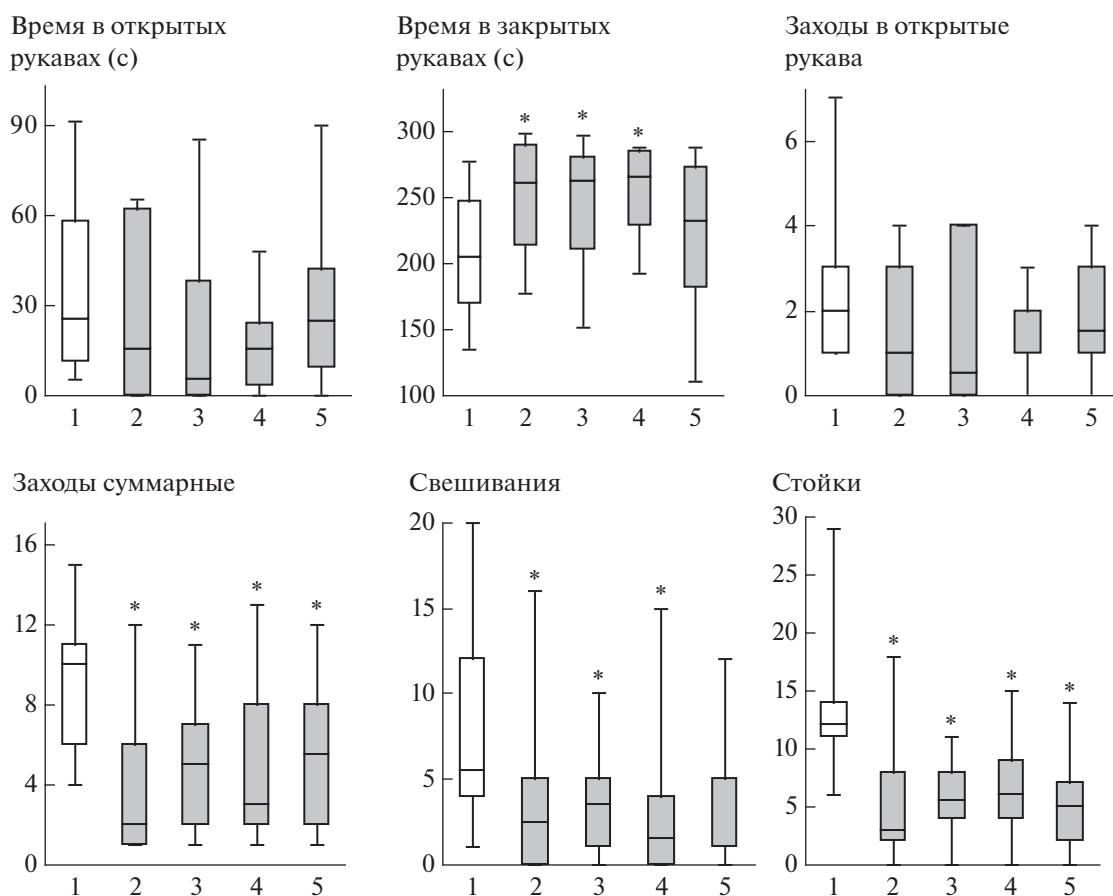
В третьей серии экспериментов для оценки длительности действия АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub>РGP изучали эффекты пептидов при введении за 20 часов до стресса. Через 30 мин после окончания стрессогенного воздействия оценивали уровень тревожности животных в тесте ПКЛ. Использование критерия Краскела–Уоллиса показало статистически значимые различия между группами по таким показателям, как время, проведенное в закрытых рукавах, суммарное число заходов в рукава, число стоек и свешиваний ( $H(4, N = 70) > 10.2; p < 0.04$ ). По времени в открытых рукавах и числу заходов в открытые рукава значимых отличий отмечено не было ( $H < 6.4; p > 0.17$ ). В группе “Стресс” время в закрытых рукавах было статистически значимо больше, а суммарное число заходов в рукава, число стоек и свешиваний значимо меньше, чем в группе “Контроль” ( $p < 0.03$ ) (рис. 3). Введение пептидов АКТГ<sub>15-18</sub> (250 мкг/кг) и АКТГ<sub>15-18</sub>РGP (50 мкг/кг) не оказывало влияния на эффекты стресса. В группе крыс, получавших АКТГ<sub>15-18</sub>РGP в дозе 250 мкг/кг, отмечалось статистически значимое снижение суммарного числа заходов в рукава и числа стоек по сравнению с группой “Контроль” ( $p < 0.02$ ), остальные показатели в этой группе значимо от контроля не отличались ( $p > 0.10$ ). Значимых различий показателей поведения между группами крыс, подвергавшихся стрессогенному воздействию, не наблюдалось ( $p > 0.10$ ).

Через 24 часа после стресса оценивали поведение крыс в тесте “О-образный лабиринт”. Применение критерия Краскела–Уоллиса выявило значимые различия между группами по таким показателям, как ЛП захода в открытый сектор, время в открытых секторах и число заходов в открытые сектора ( $H(4, N = 65) > 17.2; p < 0.002$ ). Различий по числу стоек и свешиваний отмечено не было

( $H < 5.0; p > 0.29$ ). Дальнейший анализ не выявил значимых отличий показателей поведения крыс группы “Стресс” от контрольных животных ( $p > 0.12$ ) (рис. 4). Параметры поведения крыс, получавших до стресса инъекцию АКТГ<sub>15-18</sub>, не отличались от соответствующих значений в группах “Контроль” и “Стресс” ( $p > 0.16$ ). В группе “АКТГ<sub>15-18</sub>РGP–50 + Стресс” время, проведенное в открытых секторах, было статистически значимо больше ( $p = 0.04$ ), а число заходов в открытые сектора было увеличено на уровне тенденции ( $p = 0.09$ ) по сравнению с группой “Контроль”. В группе “АКТГ<sub>15-18</sub>РGP–250 + Стресс” ЛП захода в открытый сектор был статистически значимо меньше, а число заходов в открытые сектора значимо больше, чем в группе “Контроль” ( $p < 0.04$ ). Кроме того, в группах крыс, которым вводили АКТГ<sub>15-18</sub>РGP в обеих дозах, отмечалось статистически значимое снижение ЛП захода в открытый сектор, а также увеличение времени в открытых секторах и числа заходов в открытые сектора по сравнению с группами “Стресс” и “АКТГ<sub>15-18</sub>–250 + Стресс” ( $p < 0.01$ ).

Таким образом, в данной серии экспериментов нами было зарегистрировано увеличение уровня тревожности крыс через 30 мин после стрессогенного воздействия. Кроме того, в группе крыс, перенесших стресс, отмечалось снижение исследовательской активности, о чем свидетельствует уменьшение числа стоек и суммарного числа заходов в рукава относительно показателей контрольной группы. Введение исследуемых пептидов за 20 часов до стресса не оказывало влияния на поведение крыс через 30 мин после воздействия. В этой серии экспериментов нами не было зарегистрировано отставленных изменений поведения у крыс группы “Стресс”, хотя показатели поведения в группах “Стресс” и “АКТГ<sub>15-18</sub>–250 + Стресс” были несколько ниже контрольных значений. У крыс группы “Контроль” в тесте “О-образный лабиринт” наблюдался довольно высокий уровень тревожности. Можно предположить, что на таком фоне эффекты стрессогенного воздействия были менее выражены. Введение пептида АКТГ<sub>15-18</sub> за 20 часов до стресса не оказывало влияния на поведение крыс в тесте “О-образный лабиринт”. В группах животных, которым вводили АКТГ<sub>15-18</sub>РGP в обеих дозах, отмечалось снижение уровня тревожности как относительно группы “Кон-





**Рис. 3.** Влияние АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на стресс-вызванные изменения поведения крыс в тесте ПКЛ через 30 мин после окончания электрошолевого раздражения. Группы крыс: 1 – Контроль; 2 – Стресс; 3 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub> (250 мкг/кг); 4 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub>PGP (50 мкг/кг); 5 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub>PGP (250 мкг/кг). Пептиды вводили за 20 ч до стресса. В каждой группе по 14 крыс. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха и минимального и максимального значений. Статистически значимые отличия от контроля отмечены \* ( $p < 0.05$ ).

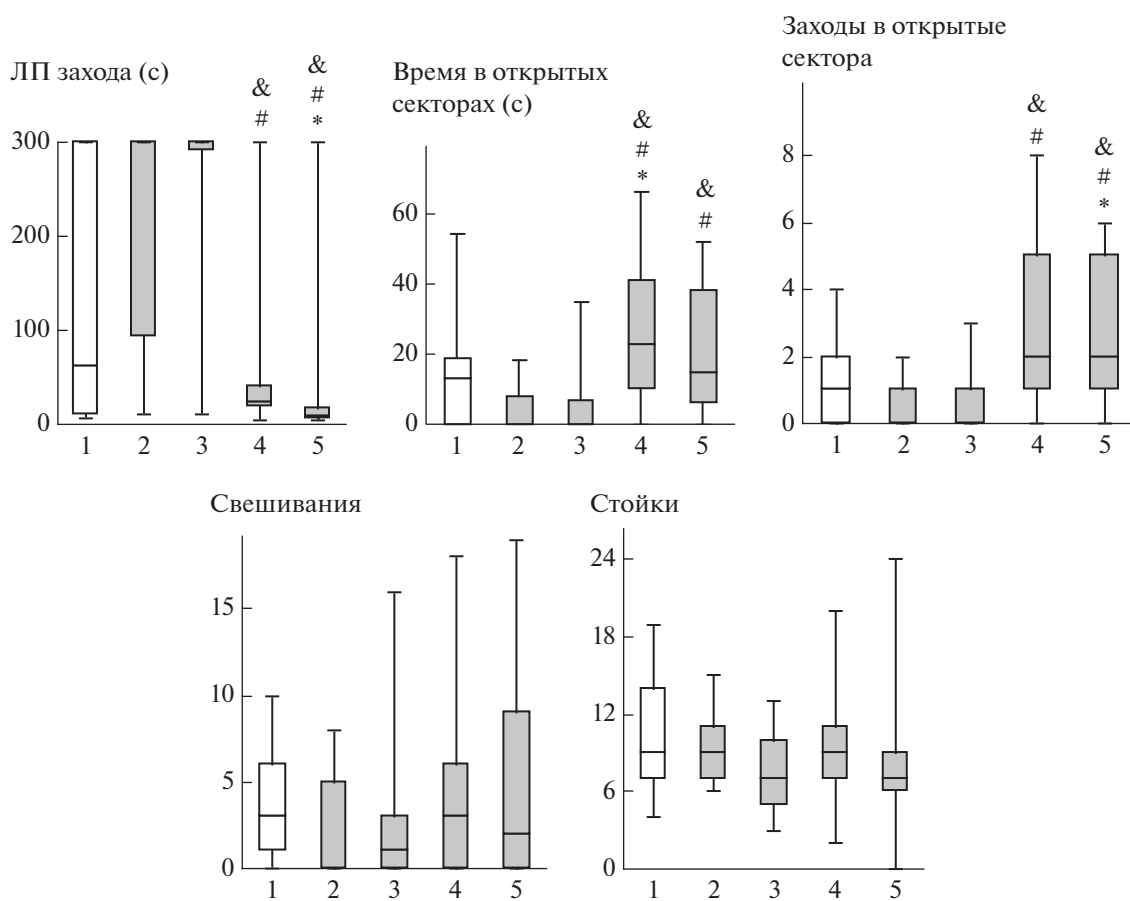
**Fig. 3.** Effects of ACTH<sub>15-18</sub> and ACTH<sub>15-18</sub>PGP on stress-induced behavioral alterations in elevated plus maze 30 min after acute foot shock. Groups of rats: 1 – Control; 2 – Stress; 3 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub> (250 µg/kg); 4 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub>PGP (50 µg/kg); 5 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub>PGP (250 µg/kg). The peptides were administrated 20 h before stress.  $n = 14$  rats/group. The data are shown as median and interquartile range with minimum and maximum values. Significant differences vs Control marked \* ( $p < 0.05$ ).

троль”, так и по сравнению с группой “Стресс”. Следовательно, при введении за 20 часов до стресса пептид АКТГ<sub>15-18</sub>PGP проявляет анксиолитическую активность.

#### *Влияние пептидов АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на стресс-вызванные изменения болевой чувствительности*

В четвертой серии экспериментов изучали влияние пептидов на изменение болевой чувствительности, вызванное стрессогенным воздействием. Пептиды вводили за 30 мин до начала воздействия, величину болевой порога измеряли через 5, 20, 35 и 50 мин после

окончания электрошолевого раздражения. Применение ANOVA для повторных измерений выявило статистически значимое влияние факторов ГРУППА ( $F_{4,45} = 2.75, p = 0.039$ ) и ВРЕМЯ ИЗМЕРЕНИЯ ( $F_{6,270} = 21.01, p < 0.00001$ ), а также значимое взаимодействие этих факторов ( $F_{24,270} = 2.11, p < 0.002$ ). Дальнейший анализ показал статистически значимое повышение болевой порога во всех группах крыс, перенесших стресс, как относительно фоновых значений ( $p < 0.001$ ), так и по сравнению с группой “Контроль” ( $p < 0.01$ ) через 5 мин после окончания стресса (рис. 5). Таким образом, у крыс, перенесших электрошолевое раздражение, отмечается



**Рис. 4.** Влияние АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на стресс-вызванные изменения поведения крыс в тесте “О-образный лабиринт” через 24 часа после окончания электрошокового раздражения. Группы крыс: 1 – Контроль; 2 – Стресс; 3 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub> (250 мкг/кг); 4 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub>PGP (50 мкг/кг); 5 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub>PGP (250 мкг/кг). Пептиды вводили за 20 ч до стресса. В каждой группе по 14 крыс. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха и минимального и максимального значений. Статистически значимые отличия от контроля отмечены \* ( $p < 0.05$ ), от группы Стресс – # ( $p < 0.05$ ), от группы Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub> – & ( $p < 0.05$ ).

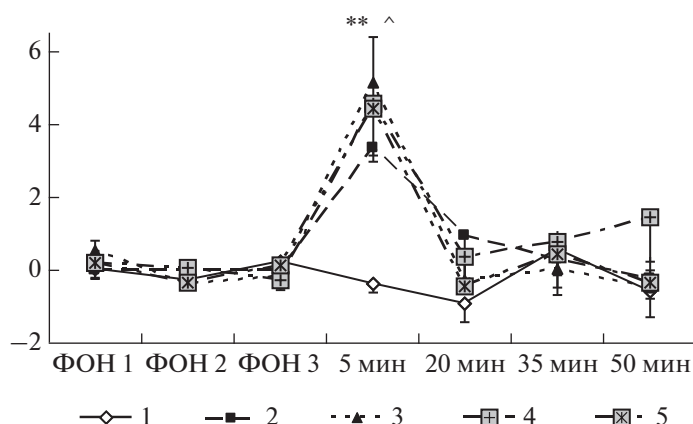
**Fig. 4.** Effects of АСТН<sub>15-18</sub> and АСТН<sub>15-18</sub>PGP on stress-induced behavioral alterations in O-maze test 24 h after acute foot shock. Groups of rats: 1 – Control; 2 – Stress; 3 – Stress + АСТН<sub>15-18</sub> (250 µg/kg); 4 – Stress + АСТН<sub>15-18</sub>PGP (50 µg/kg); 5 – Stress + АСТН<sub>15-18</sub>PGP (250 µg/kg). The peptides were administered 20 h before stress.  $n = 14$  rats/group. The data are shown as median and interquartile range with minimum and maximum values. Significant differences vs Control marked \* ( $p < 0.05$ ); differences vs Stress – # ( $p < 0.05$ ); differences vs Stress + АСТН<sub>15-18</sub> – & ( $p < 0.05$ ).

стресс-вызванная анальгезия. Введение исследуемых пептидов не влияло на изменение болевой чувствительности, вызванное стрессом.

*Влияние пептидов АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на стресс-вызванные изменения уровня кортикостерона в крови*

При изучении влияния исследуемых пептидов на базовый уровень кортикостерона и изменения содержания кортикостерона, вызванные стрессогенным воздействием, препараты вводили за 20 ч до стресса. Измерения

уровня кортикостерона в сыворотке крови крыс проводили за 30 мин до начала и через 10 и 45 мин после окончания стрессогенного воздействия. Оценка базового уровня кортикостерона в сыворотке крови крыс не выявила значимого влияния фактора ГРУППА на этот показатель ( $F_{4,32} = 1.10, p = 0.37$ ). Применение ANOVA для повторных измерений продемонстрировало статистически значимое влияние факторов ГРУППА ( $F_{4,32} = 4.49, p = 0.005$ ) и ВРЕМЯ ИЗМЕРЕНИЯ ( $F_{2,64} = 4.50, p = 0.042$ ), взаимодействия факторов отмечено не было ( $F_{4,32} = 0.68, p = 0.64$ ).



**Рис. 5.** Влияние АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на стресс-вызванные изменения болевой чувствительности крыс в тесте отдергивания задней лапы. По оси абсцисс – время после окончания стресса (мин), по оси ординат – изменение болевого порога относительно фоновых значений (условные единицы прибора). Группы крыс: 1 – Контроль; 2 – Стресс; 3 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub> (250 мкг/кг); 4 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub>PGP (50 мкг/кг); 5 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub>PGP (250 мкг/кг). Пептиды вводили за 30 мин до стресса. В каждой группе по 10 крыс. Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка среднего. Статистически значимые отличия от контроля отмечены \*\* ( $p < 0.01$ ), от фоновых значений – ^ ( $p < 0.001$ ).

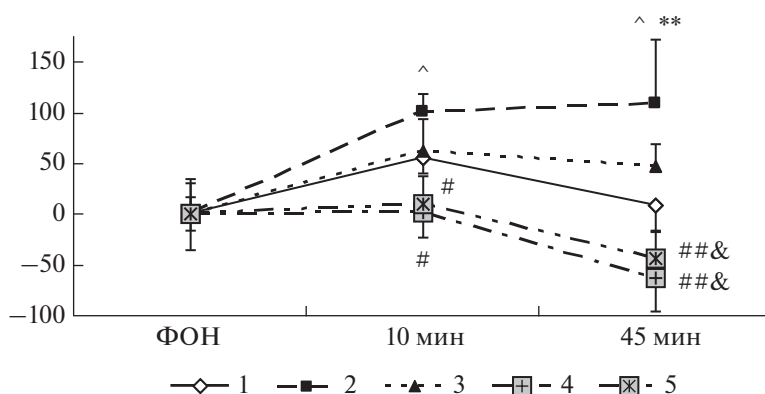
**Fig. 5.** Effects of ACTH<sub>15-18</sub> and ACTH<sub>15-18</sub>PGP on stress-induced analgesia in the paw-withdrawal test. The X-axis – the time after stress termination (min), the Y-axis – changes in pain threshold relatively the baseline values (conventional units). Groups of rats: 1 – Control; 2 – Stress; 3 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub> (250  $\mu$ g/kg); 4 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub>PGP (50  $\mu$ g/kg); 5 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub>PGP (250  $\mu$ g/kg). The peptides were administrated 30 min before stress.  $n = 10$  rats / group. The data are shown as mean  $\pm$  standard error of means. Significant differences vs Control marked \*\* ( $p < 0.01$ ), differences vs baseline value – ^ ( $p < 0.001$ ).

В группе “Контроль” не было отмечено значимого изменения содержания кортикостерона относительно фоновых значений ( $p > 0.10$ ) (рис. 6). У крыс группы “Стресс” через 10 и 45 мин после окончания воздействия наблюдалось статистически значимое увеличение содержания кортикостерона относительно исходного уровня ( $p < 0.005$ ), кроме того, через 45 мин содержание кортикостерона у этих животных было значимо выше, чем в группе “Контроль” ( $p = 0.01$ ). В группе “АКТГ<sub>15-18</sub>–250 + Стресс” содержание кортикостерона через 10 мин после стресса превышало фоновые значения на уровне тенденции ( $p = 0.07$ ), при этом значимых отличий уровня гормона у крыс этой группы от контроля и группы «Стресс» отмечено не было ( $p > 0.18$ ). В группах животных, получавших инъекции АКТГ<sub>15-18</sub>PGP в обеих дозах, содержание кортикостерона после стресса не отличалось от фоновых значений ( $p > 0.10$ ). Также не было зарегистрировано значимых отличий между этими группами и группой “Контроль” ( $p > 0.12$ ). При этом уровень кортикостерона в группах крыс, которым вводили АКТГ<sub>15-18</sub>PGP в обеих дозах, был статистически значимо ниже, чем в группе “Стресс” через 10 ( $p < 0.04$ ) и 45 мин ( $p < 0.001$ ) после

стресса. Следовательно, использованное электроболевое воздействие вызывает увеличение содержания кортикостерона в сыворотке крови. Введение тетрапептида АКТГ<sub>15-18</sub> за 20 часов до стресса незначительно ослабляло стресс-вызванный выброс кортикостерона. Инъекции АКТГ<sub>15-18</sub>PGP в обеих дозах приводили к снижению до контрольных значений содержания кортикостерона в крови крыс, перенесших электроболевое раздражение. Кроме того, уровни кортикостерона в группе крыс, получавших инъекции АКТГ<sub>15-18</sub>PGP, через 45 мин после стресса были статистически значимо ниже, чем в группе животных, которым вводили АКТГ<sub>15-18</sub>.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В данной работе проведено исследование влияния фрагмента АКТГ<sub>15-18</sub> (тетрапептида KKRR) и его нового аналога АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на поведение крыс в норме, а также на стресс-вызванные изменения поведения, болевой чувствительности и уровня кортикостерона у белых крыс. Проведенные эксперименты показали, что введение АКТГ<sub>15-18</sub> в дозе 250 мкг/кг или АКТГ<sub>15-18</sub>PGP в дозах 50 и 250 мкг/кг не



**Рис. 6.** Влияние АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub>PGP на стресс-вызванные изменения содержания кортикостерона в сыворотке крови крыс. По оси абсцисс – время после окончания стресса (мин), по оси ординат – изменение уровней кортикостерона относительно фоновых значений (нг/мл). Группы крыс: 1 – Контроль; 2 – Стресс; 3 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub> (250 мкг/кг); 4 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub>PGP (50 мкг/кг); 5 – Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub>PGP (250 мкг/кг). Пептиды вводили за 20 ч до стресса. В каждой группе по 7–8 крыс. Данные представлены в виде среднего ± стандартная ошибка среднего. Статистически значимые отличия от контроля отмечены \*\* ( $p < 0.01$ ), от группы стресс – # ( $p < 0.05$ ) и ## ( $p < 0.01$ ), от группы Стресс + АКТГ<sub>15-18</sub> – & ( $p < 0.05$ ), от фоновых значений – ^ ( $p < 0.001$ ).

**Fig. 6.** Effects of ACTH<sub>15-18</sub> and ACTH<sub>15-18</sub>PGP on stress-induced changes in serum corticosterone levels. The X-axis – the time after stress termination (min), the Y-axis – changes in corticosterone levels relatively the baseline values (ng/mL). Groups of rats: 1 – Control; 2 – Stress; 3 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub> (250 µg/kg); 4 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub>PGP (50 µg/kg); 5 – Stress + ACTH<sub>15-18</sub>PGP (250 µg/kg). The peptides were administrated 20 h before stress.  $n = 7-8$  rats/group. The data are shown as mean ± standard error of means. Significant differences vs Control marked \*\* ( $p < 0.01$ ); differences vs Stress – # ( $p < 0.05$ ) and ## ( $p < 0.01$ ); differences vs Stress + ACTH<sub>15-18</sub> – & ( $p < 0.05$ ); differences vs baseline value – ^ ( $p < 0.001$ ).

приводит к изменению параметров поведения крыс в тесте ПКЛ через 1 час и тесте “О-образный лабиринт” через 24 часа после внутрибрюшинного введения. Следовательно, как природный фрагмент, так и его аналог в исследованных дозах не влияют на уровень тревожности животных в норме.

Многочисленные исследования показали, что острые стрессогенные воздействия различной природы могут вызывать у животных снижение исследовательской активности и увеличение тревожности (Pijlman, Van Ree, 2002; Zhang et al., 2019). Используемое нами электроболевое раздражение также приводило к увеличению уровня тревожности животных в тесте ПКЛ через 30 мин после окончания стресса и в тесте “О-образный лабиринт” через 24 часа после стресса. Пептиды АКТГ<sub>4-10</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub>PGP в исследуемых дозах при введении за 30 мин до стрессогенного воздействия оказывали антистрессорное действие – ослабляли как острые, так и отставленные изменения поведения животных, вызванные электроболевым раздражением. При этом введение АКТГ<sub>15-18</sub>PGP не только ослабляло стресс-вызванные изменения поведения, но и снижало уровень тре-

возности крыс, перенесших стресс, относительно контрольных значений. То есть АКТГ<sub>15-18</sub>PGP оказывал антистрессорное и анксиолитическое действие.

При введении за 20 часов до электроболевого раздражения исследуемые пептиды не влияли на поведение крыс в ПКЛ через 30 мин после стресса – во всех группах крыс, перенесших стресс, отмечался повышенный уровень тревожности. Однако следует отметить, что у крыс, получавших АКТГ<sub>15-18</sub>PGP в дозе 250 мкг/кг, увеличение тревожности было менее выражено – время, проведенное в закрытых рукавах, и число свешиваний не отличались от контрольных значений. При оценке отставленных изменений поведения в О-образном лабиринте в этой серии не было выявлено статистически значимых эффектов стресса. Введение пептида АКТГ<sub>15-18</sub> за 20 ч до стресса не оказывало влияния на поведение крыс в тесте “О-образный лабиринт”. Крысы, получавшие инъекции АКТГ<sub>15-18</sub>PGP в обеих дозах, демонстрировали сниженный уровень тревожности по сравнению с другими экспериментальными группами. Следовательно, при введении за 20 ч до стресса пептид АКТГ<sub>15-18</sub> не влияет на стресс-вызванные

изменения поведения, а его аналог АКТГ<sub>15-18</sub> PGP оказывает анксиолитическое действие.

Хорошо известно, что острое стрессорное воздействие приводит к снижению реакции организма на болевые стимулы, развивается стресс-вызванная анальгезия (СВА). При действии стрессора активируются нисходящие тормозные пути, которые модулируют передачу болевой информации (Uchiyama et al., 2022). В развитии СВА участвуют различные нейромедиаторы, такие как опиоиды, эндоканнабиноиды, серотонин, дофамин, гистамин, ГАМК, глутамат и др. Специфические системы нейромедиаторов, опосредующие СВА, определяются характером, продолжительностью и интенсивностью стрессора (Butler, Finn, 2009; Atwal et al., 2020). В данном исследовании оценка болевой чувствительности животных показала, что использованное электроболевое раздражение приводит к повышению болевого порога у крыс через 5 мин после окончания стрессогенного воздействия. Введение исследуемых пептидов не приводило к достоверному изменению выраженности стресс-вызванной анальгезии у крыс.

Наши эксперименты также показали, что введение АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub> PGP за 20 ч до стресса, вызванного электроболевым раздражением, ослабляет стресс-вызванный выброс кортикостерона. При этом эффекты гептапептида были более выражены, чем эффекты АКТГ<sub>15-18</sub>. Известно, что как увеличение уровня кортикостерона, вызванное стрессогенным воздействием, так и введение экзогенного кортикостерона приводят к возрастанию тревожности животных (Kutiyawalla et al., 2011; Frahm et al., 2020). Вероятно, зарегистрированные нами анксиолитические эффекты АКТГ<sub>15-18</sub> и его аналога связаны с подавлением выброса кортикостерона под действием острого стресса.

Согласно данным литературы, синтетический пептид KKRR, соответствующий фрагменту АКТГ<sub>15-18</sub>, проявляет свойства антагониста MC2R (Ковалицкая и др., 2008). Также было показано, что введение этого тетрапептида за сутки до стрессогенного воздействия предотвращает возрастание уровня кортикостерона в надпочечниках и плазме крови крыс, вызванное холодовым и тепловым шоком (Садовников и др., 2009). В наших экспериментах введение АКТГ<sub>1-24</sub> и его аналога АКТГ<sub>15-18</sub> PGP приводило к снижению выбро-

са кортикостерона, вызванного электроболевым раздражением. Данные литературы и полученные нами результаты позволяют рассматривать эти пептиды как вероятные антагонисты MC-рецепторов второго типа, опосредующих влияние АКТГ на надпочечники. Можно предположить, что зарегистрированные нами антистрессорные эффекты АКТГ<sub>15-18</sub> и его синтетического аналога АКТГ<sub>15-18</sub> PGP связаны с влиянием этих пептидов на функционирование гипоталамо-гипофизарно-адренальной оси.

## ВЫВОДЫ

1. Тетрапептид АКТГ<sub>15-18</sub> (KKRR) и его аналог АКТГ<sub>15-18</sub> PGP при однократном внутривенном введении снижают стресс-вызванную тревожность крыс в тестах “Приподнятый крестообразный лабиринт” и “О-образный лабиринт”.
2. Введение АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub> PGP перед стрессогенным воздействием не влияет на стресс-вызванную анальгезию.
3. Введение АКТГ<sub>15-18</sub> и АКТГ<sub>15-18</sub> PGP за 20 ч до электроболевого раздражения приводит к снижению стресс-вызванного выброса кортикостерона.
4. Выраженность и длительность антистрессорных эффектов АКТГ<sub>15-18</sub> PGP значительно превышают выраженность и длительность эффектов его природного прототипа.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена в рамках государственного задания МГУ имени М.В. Ломоносова (№ 121032300071-8).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ашмарин И.П., Незавибатько В.Н., Мясоедов Н.Ф., Каменский А.А., Гривенников И.А., Пономарева-Степная М.А., Андреева Л.А., Каплан А.Я., Кошелев В.Б., Ясина Т.В. Ноотропный аналог адренкортикотропина 4-10-Семакс (15-летний опыт разработки и изучения). Журн. высш. нервн. деят. им. И.П.Павлова. 1997. 47(3): 420–430.
- Ковалицкая Ю.А., Колобов А.А., Кампе-Немм Е.А., Золотарев Ю.А., Юровский В.В., Садовников В.Б., Липкин В.М., Наволоцкая Е.В. Синтетический пептид KKRR, соответствующий фрагменту 15–18 адренкортикотропного гормона чело-

- века, является его антагонистом. Журн. Биоорг. химия. 2008. 34(1): 29–35.
- Розен В.Б.* Основы эндокринологии. М.: Изд-во МГУ, 1994.
- Садовников В.Б., Сажин А.И., Золотарев Ю.А., Наволоцкая Е.В.* Стресс-протекторное действие синтетического пептида KKRR, соответствующего фрагменту 15–18 адренокортикотропного гормона человека. Журн. Биоорг. химия. 2009. 35(1): 25–29.
- Atwal N., Winters B.L., Vaughan C.W.* Endogenous cannabinoid modulation of restraint stress-induced analgesia in thermal nociception. J. Neurochem. 2020. 152(1): 92–102.
- Butler R.K., Finn D.P.* Stress-induced analgesia. Prog. Neurobiol. 2009. 88(3): 184–202.
- Catania A., Lipton J.M.*  $\alpha$ -Melanocyte stimulating hormone in the modulation of host reactions. Endocrine Reviews. 1993. 14(5): 564–576
- Catania A., Gatti S., Colombo G., Lipton J.M.* Targeting melanocortin receptors as a novel strategy to control inflammation. Pharmacol. Rev. 2004. 56(1): 1–29
- Clark A.J.L., Chan L.* Stability and turnover of the ACTH receptor complex. Front. Endocrinol. (Lausanne). 2019. 10: 491.
- Davis P.E., Wilkinson E.C., Dores R.M.* Identifying Common Features in the Activation of Melanocortin-2 Receptors: Studies on the *Xenopus tropicalis* Melanocortin-2 Receptor. International Journal of Molecular Sciences. 2019. 20(17): 4166.
- Floriou-Servou A., von Ziegler L., Waag R., Schläppi C., Germain P.L., Bohacek J.* The acute stress response in the multiomic era. Biol Psychiatry. 2021. 89(12): 1116–1126.
- Frahm K.A., Williams A.A., Wood A.N., Ewing M.C., Mattila P.E., Chuan B.W., Guo L., Shah F.A., O'Donnell C.P., Lu R., DeFranco D.B.* Loss of CREBRF reduces anxiety-like behaviors and circulating glucocorticoids in male and female mice. Endocrinology. 2020. 161(11): bqaa163.
- Fridmanis D., Roga A., Klovinis J.* ACTH receptor (MC2R) specificity: what do we know about underlying molecular mechanisms? Front. Endocrinol. (Lausanne). 2017. 8: 13.
- Gallo-Payet N., Martinez A., Lacroix A.* Editorial: ACTH Action in the Adrenal Cortex: From Molecular Biology to Pathophysiology. Front Endocrinol (Lausanne). 2017. 8: 101.
- Gantz I., Fong T.M.* The melanocortin system. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 2003. 284: E468–E474.
- Ghaddhab C., Vuissoz J.M., Deladoëy J.* From Bioinactive ACTH to ACTH Antagonist: The Clinical Perspective. Front. Endocrinol. 2017. 8: 17.
- Kolomin T., Shadrina M., Andreeva L., Slominsky P., Limborska S., Myasoedov N.* Expression of inflammation-related genes in mouse spleen under tuftsin analog Selank. Regul. Pept. 2011. 170(1–3): 18–23.
- Kovalitskaya Y.A., Zolotarev Y.A., Kolobov A.A., Sadovnikov V.B., Yurovsky V.V., Navolotskaya E.V.* Interaction of ACTH synthetic fragments with rat adrenal cortex membranes. J. Pept. Sci. 2007. 13(8): 513–518.
- Kutiyanawalla A., Terry A.V. Jr., Pillai A.* Cysteamine attenuates the decreases in TrkB protein levels and the anxiety/depression-like behaviors in mice induced by corticosterone treatment. PLoS One. 2011. 6(10): e26153.
- O'Connor T.M., O'Halloran D.J., Shanahan F.* The stress response and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: from molecule to melancholia. Q.J.M. 2000. 93(6): 323–333.
- Pijlman F.T., van Ree J.M.* Physical but not emotional stress induces a delay in behavioural coping responses in rats. Behav. Brain Res. 2002. 136(2): 365–373.
- Raffin-Sanson M.L., de Keyser Y., Bertagna X.* Proopiomelanocortin, a polypeptide precursor with multiple functions: From physiology to pathological conditions. Eur J Endocrinol. 2003. 149: 79–90.
- Schwabe L.* Memory under stress: from single systems to network changes. Eur J Neurosci. 2017. 45(4): 478–489.
- Starowicz K., Przewlocka B.* The role of melanocortins and their receptors in inflammatory processes, nerve regeneration and nociception. Life Sci. 2003. 73(7): 823–847.
- Uchiyama S., Yoshihara K., Kawanabe R., Hatada I., Koga K., Tsuda M.* Stress-induced antinociception to noxious heat requires  $\alpha_{1A}$ -adrenaline receptors of spinal inhibitory neurons in mice. Mol. Brain. 2022. 15(1): 6.
- Yang Y., Harmon C.M.* Molecular determinants of ACTH receptor for ligand selectivity. Mol Cell Endocrinol. 2020. 503: 110688
- Zhang W.J., Cao W.Y., Huang Y.Q., Cui Y.H., Tu B.X., Wang L.F., Zou G.J., Liu Y., Hu Z.L., Hu R., Li C.Q., Xing X.W., Li F.* The Role of miR-150 in stress-induced anxiety-like behavior in mice. Neurotox. Res. 2019. 35(1): 160–172.

**EFFECTS OF FRAGMENT ACTH<sub>15-18</sub> AND ITS ANALOG ACTH<sub>15-18</sub>PGP ON THE CONSEQUENCES OF THE ACUTE STRESS EXPOSURE**

**D. M. Manchenko<sup>a</sup>, N. Yu. Glazova<sup>b</sup>, E. A. Sebentsova<sup>b</sup>, L. A. Andreeva<sup>b</sup>, O. V. Dolotov<sup>a, b</sup>, A. A. Kamensky<sup>a</sup>, N. F. Myasoedov<sup>b</sup>, and N. G. Levitskaya<sup>a, #</sup>**

<sup>a</sup>*Lomonosov Moscow State University, Biology faculty, Moscow, Russia*

<sup>b</sup>*Institute of Molecular Genetics of National Research Centre "Kurchatov Institute", Moscow, Russia*

<sup>#</sup>*e-mail: nglevitskaya@gmail.com*

Tetrapeptide KKRR, corresponding to the fragment ACTH<sub>15-18</sub>, is the shortest fragment that binds to the ACTH receptor with high affinity, does not activate this receptor and prevents the binding of the whole hormone molecule, therefore, exhibits the properties of an ACTH receptor antagonist. The aim of the work was to study the effects of the peptide ACTH<sub>15-18</sub> (KKRR) and its analogue ACTH<sub>15-18</sub>PGP on the animal behavior in normal conditions and after acute stress induced by inescapable electric foot-shock. It has been shown that the peptides do not affect the anxiety level of Wistar rats in the norm. Pretreatment with ACTH<sub>15-18</sub> (250 µg/kg) and its analog ACTH<sub>15-18</sub>PGP (50 and 250 µg/kg) significantly decreases anxiety level in rats exposed to the acute electric foot-shock and attenuates stress-induced changes in serum corticosterone. The magnitude and duration of the anti-stress effects of the peptide ACTH<sub>15-18</sub>PGP significantly exceeds the magnitude and duration of the effects of its natural prototype.

**Keywords:** ACTH fragments, ACTH<sub>15-18</sub>PGP, acute stress, electric foot-shock, anxiety, corticosterone, rat