

СОСТОЯНИЕ ФУНКЦИЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ КРЫС ВИСТАР ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПЕПТИДА ТАФТИЦИН-ПГП (СЕЛАНК) В УСЛОВИЯХ ИММОБИЛИЗАЦИОННОГО СТРЕССА

© Бобынцев И.И.¹, Кривошлыкова М.С.¹, Медведева О.А.¹, Ворвуль А.О.¹, Андреева Л.А.², Мясоедов Н.Ф.²

¹ Курский государственный медицинский университет (КГМУ)

Россия, 305041, Курская область, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3

² Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»

(НИЦ «Курчатовский институт»)

Россия, 123182, г. Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1

Цель исследования – изучение состояния функций нервной системы крыс Вистар при применении пептида тафтицина-ПГП в условиях иммобилизационного стресса.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на 45 крысах-самцах Вистар массой 200-230 г. Пептид селанк (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) вводили внутрибрюшинно в дозах 80, 250 и 750 мкг/кг за 15 минут до стрессорного воздействия. Животные были разделены на 5 групп (n = 9): 1 – контроль (нестрессированные животные, которым вводили изотопический раствор NaCl); 2 – стресс (стрессированные животные, которым вводили изотопический раствор натрия хлорида); 3-5 – стресс+тафтицин-ПГП в дозах 80, 250 и 750 мкг/кг. Животные подвергались стрессу в течение 28 дней, с 15-й по 28-й дни животным вводили селанк/изотонический раствор NaCl. Нейротропные эффекты селанка оценивали в тестах приподнятоого крестообразного лабиринта (ПКЛ), открытого поля (ОП) и принудительного плавания по Порсолту. Для оценки выраженности стресс-реакции оценивали концентрацию кортикостерона в сыворотке крови крыс с помощью иммуноферментного анализа.

Результаты. Установлено, что 28-дневный иммобилизационный стресс вызывал нарушения функций нервной системы в виде повышения уровня тревожности, горизонтальной, вертикальной, локомотивной активности, эмоциональности и выраженности депрессивного поведения, а также повышение концентрации кортикостерона в сыворотке крови экспериментальных животных. Введение тафтицина-ПГП на фоне предварительного стрессирования (с 15-й по 28-й дни эксперимента) способствовало снижению выраженности стресс индуцированных изменений поведения крыс: в дозе 750 мкг/кг пептид оказывал анксиолитическое действие, 250 мкг/кг – антидепрессивное. При этом данные изменения происходили на фоне значимого снижения уровня кортикостерона в сыворотке крови.

Заключение. Таким образом, селанк корректирует стресс индуцированные изменения состояния функций нервной системы в условиях 28-дневного иммобилизационного стресса.

Ключевые слова: тафтицин-ПГП (селанк); иммобилизационный стресс; тревожность; депрессия, эмоциональность; локомоторная активность; кортикостерон.

Бобынцев Игорь Иванович – д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патофизиологии, директор НИИ общей патологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0001-7745-2599. E-mail: bobig@mail.ru

Кривошлыкова Марина Сергеевна – ассистент кафедры фармакологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0009-0005-2426-358X. E-mail: lew_marina@mail.ru (автор, ответственный за переписку).

Медведева Ольга Анатольевна – д-р биол. наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-2889-155X. E-mail: olgafrida@rambler.ru

Ворвуль Антон Олегович – ассистент кафедры патофизиологии, мл. науч. сотрудник НИИ общей патологии, КГМУ, г. Курск. ORCID iD: 0000-0002-1529-6014. E-mail: vorvul1996@mail.ru

Андреева Людмила Александровна – зам. зав. лабораторией молекулярной фармакологии пептидов, НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва. ORCID iD: 0000-0002-3927-8590. E-mail: landr@img.ras.ru

Мясоедов Николай Федорович – д-р хим. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярной фармакологии пептидов, НИЦ «Курчатовский институт», г. Москва. ORCID iD: 0000-0003-1294-102X. E-mail: nfm@img.ras.ru

В настоящее время в клинической практике все чаще применяются фармакологические препараты, созданные на основе регуляторных пептидов, что обуславливает целесообразность поиска и разработки их синтетических аналогов для применения в практической медицине.

Одним из таких соединений является пептид Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro, который включает в себя пептид тафтицин (участок тяжелой цепи IgG) и глипролин Pro-Gly-Pro (ПГП), который обеспечивает защиту молекулы от разрушения эндопептидазами. На основе тафтицина-ПГП создан фармакологический препарат

анксиолитического действия «Селанк®» (АО ПЕПТОГЕН Инновационный научно-производственный центр, Россия), который вследствие плейотропности обладает широким спектром биологических эффектов: нейротропным, иммуномодулирующим, антикоагулянтным, антиульцерогенным и гепатопротекторным и др. [1].

Известно, что хронический стресс оказывает выраженное влияние на функциональное состояние оси «кишечник-мозг». Так, отмечалось увеличение уровня тревожности и проявлений депрессивного поведения у экспериментальных

животных на различных моделях хронического стрессового воздействия [2-5]. Кроме того, показаны количественные и качественные изменения состава микробиоты толстой кишки [6-9], изменение морфофункционального состояния ее стенки [10-12], а также увеличение уровней провоспалительных цитокинов. Также установлено, что хронический иммобилизационный стресс (14 дней) приводил к изменению корреляционных отношений между функциональным состоянием нервной системы и количественным составом кишечной микробиоты [3].

Показано, что тафтцин-ПГП оказывал стресс-лимитирующее действие в условиях хронического иммобилизационного стресса: приводил к нормализации состава кишечной микробиоты, снижению вызванных стрессом воспалительных изменений стенки толстой кишки [7, 9, 13]. При этом стоит отметить, что в данных исследованиях пептид начинали вводить животным одновременно с началом стрессового воздействия, что можно рассматривать как первый этап определения эффектов тафтцина-ПГП в условиях стресса. Учитывая выявленные стресс-лимитирующие эффекты тафтцина-ПГП, представляется целесообразным продолжение изучения активности пептида в рамках оси «кишечник-мозг» на фоне предварительного стрессирования и сформированных стресс индуцированных изменений в организме.

Целью исследования являлось изучение состояния функций нервной системы крыс Вистар при применении пептида тафтцина-ПГП в условиях иммобилизационного стресса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 45 крысах-самцах Вистар массой 200-230 г, полученных из SPF-вивария Института цитологии и генети-

ки СО РАН. Животных содержали при режиме освещенности 12 часов – свет, 12 часов – темнота и свободном доступе к воде и корму.

Пептид селанк (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro), синтезированный в Институте молекулярной генетики НИЦ «Курчатовский институт», растворяли в 0,9% растворе натрия хлорида и вводили внутрибрюшинно в дозах 80, 250 и 750 мкг/кг за 15 минут до стрессорного воздействия в объеме из расчета 1 мл на 1 кг массы тела. Контрольные животные получали эквивалентные объемы физиологического раствора.

Животные были разделены на 5 групп (n = 9): 1 – контроль (нестрессированные животные, которым вводили изотопический раствор натрия хлорида); 2 – стресс (стрессированные животные, которым вводили изотопический раствор натрия хлорида); 3-5 – стресс+тафтцин-ПГП в дозах 80, 250 и 750 мкг/кг. Стресс моделировали путем помещения животных в тесные прозрачные пластиковые вентилируемые боксы на 2 ч. Животные подвергались стрессу в течение 28 дней, с 15-й по 28-й дни животным вводили селанк/изотонический раствор натрия хлорида (рис. 1).

Нейротропные эффекты селанка оценивали на 28-й и 29-й дни эксперимента (2 дня до его окончания) по уровню тревожности, горизонтальной, вертикальной, локомотивной активности, эмоциональности, а также выраженности депрессивного поведения у животных в тестах приподнятого крестообразного лабиринта (ПКЛ), открытого поля (ОП) и принудительного плавания по Порсолту с использованием оборудования PanLab Harvard Apparatus, Испания. Видеофиксацию поведения животных в установках и обработку полученных видеофайлов проводили с помощью аппаратного и программного обеспечения для видеослежения за телом животного «SMART Video Tracking System» (PanLab Harvard Apparatus, Испания).

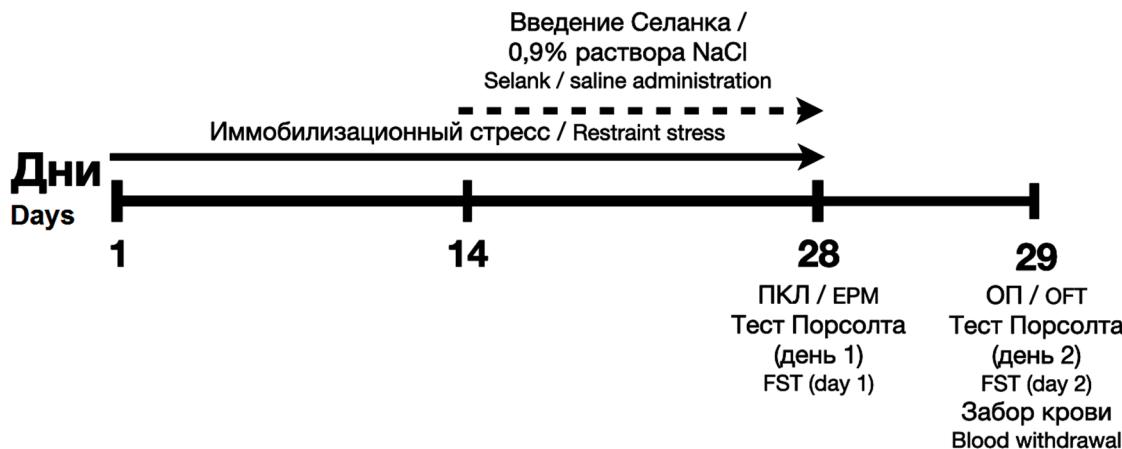


Рис. 1. Дизайн эксперимента.

Fig. 1. Experiment design.

В teste ПКЛ оценивали время, дистанцию и число заходов в закрытые и открытые рукава, центральную площадку установки [14-16]. В центре (25 см от каждого края поля) и периферии установки ОП оценивали проведенное время, пройденную дистанцию, число вертикальных стоек, поворотов, вытягиваний [16, 17]. Эмоциональность оценивали по числу оставленных фекальных болюсов, уринаций и актов короткого груминга. В teste принудительного плавания по Порсолту оценивали общее время иммобилизации, латентное время первой иммобилизации, число иммобилизаций, среднее время иммобилизации, частоту иммобилизаций [16, 18, 19]. Исследования выполняли на 28-й день (ПКЛ и обучение в teste принудительного плавания) и 29-й день эксперимента (ОП и teste принудительного плавания).

Для оценки выраженности стресс-реакции оценивали концентрацию кортикостерона в сыворотке крови крыс. Для получения сыворотки на 29-й день под эфирным наркозом производили забор 7-7,5 мл крови из правого желудочка сердца с помощью вакуумной системы S-Monovette с прокоагулянтом. Затем кровь центрифугировали (1500g×15 мин.), сыворотку аликовтировали по 200 и замораживали. Концентрацию кортикостерона определяли с помощью иммуноферментного анализа с использованием набора Corticosterone ELISA Kit (Enzo, США).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием интегрированной среды разработки для языка R «RStudio Desktop 1.4.1717» (RStudio, РВС, США). Характер распределения в вариационных рядах определяли с помощью теста Шапиро-Уилка, оценку равенства дисперсий – по критерию Левене. Для оценки достоверности различий между двумя группами применяли непарный U-критерий Манна-Уитни, трёмя и более – критерий Краскела-Уоллиса с post-hoc анализом (тест Дано) для трех и более групп. Данные представлены в виде медианы, 1-го и 3-го квартилей (Me [1Q; 3Q]). Достоверно значимыми различия считали при $p<0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что в teste ПКЛ стрессовое воздействие приводило к значимому снижению времени и дистанции в открытых рукавах установки как в абсолютных и относительных значениях (на 99,6% и 99,7% соответственно, $p<0,001$), а также числа заходов в открытых рукавах на 91% ($p<0,001$), по сравнению с контрольными нестressedированными животными

(табл. 1). Отмечалось значимое увеличение времени, дистанции и числа заходов в закрытые рукава ПКЛ соответственно на 47,4%, 26,3% и 26,3% ($p<0,001$). Кроме того, отмечалось снижение времени, дистанции и числа заходов на центральную площадку соответственно на 68%, 61,7% и 80% ($p<0,05$). Отмеченные изменения поведения экспериментальных животных свидетельствуют об увеличении у них уровня тревожности.

Применение селанка в дозе 750 мкг/кг вызывало значимое увеличение времени, пройденной дистанции и числа заходов в открытые рукава соответственно на 99,5%, 99,6% и в 7,5 раза ($p<0,01$), а также увеличение времени, пройденной дистанции и числа заходов на центральную площадку ПКЛ соответственно в 2,6, 2 и 3,3 раза ($p<0,01$) по сравнению с контрольными животными. Также в данной дозе пептид приводил к снижению времени, пройденной дистанции в закрытых рукавах установки соответственно на 26,5% и 16,4% ($p<0,01-0,001$). В опытных группах животных после введения селанка в дозах 250 и 80 мкг/кг статистически значимых отличий не отмечалось. Таким образом, в условиях иммобилизационного стресса внутрибрюшинное введение селанка оказывало анксиолитический эффект в дозе 750 мкг/кг.

При оценке горизонтальной, вертикальной и локомотивной активности установлено, что стресс приводил к снижению всех указанных видов активности: отмечалось снижение пройденной дистанции в центре на 62,3%, времени в центре установки – на 83,6%, числа стоек в центре и на периферии в 6 и 5 раз ($p<0,05-0,01$) соответственно по сравнению с нестressedированными животными, которым вводили изотонический раствор хлорида натрия (табл. 2).

Применение селанка в дозах 750 и 250 мкг/кг нивелировало стресс индуцированные изменения горизонтальной, вертикальной и локомотивной активности. Так, в обеих дозах гептапептид приводил к увеличению пройденной дистанции в центре ОП в 2,3 и 2,7 раза, а также числа вертикальных стоек в центре в обеих дозах в 5 раз, на периферии – в 4 и 7 раз ($p<0,01-0,001$).

Полученные при оценке эмоциональности животных данные показали ее увеличение в условиях стресса: отмечалось увеличение числа фекальных болюсов и актов короткого груминга в 4 и 6 раз соответственно ($p<0,01$). Введение селанка в дозе 750 мкг/кг приводило к снижению данных показателей в 4 и 6 раз соответственно ($p<0,001$). В дозе 80 мкг/кг селанк не оказывал значимого эффекта как на горизонтальную, вертикальную и локомотивную активности, так и на уровень эмоциональности.

Таблица 1

Table 1

Показатели поведения экспериментальных животных в тесте ПКЛ при введении пептида тафтцина-ПГП в условиях иммобилизационного стресса

Animals behavior indicators in elevated plus-maze test when taftsin-PGP administered under conditions of restraint stress

Показатель Indicator	Группа Group				
	Контроль Control	Контроль+стресс Control+stress	Стресс+тафтцин- ПГП 750 мкг/кг Stress+Taftsin-PGP 750 µ/kg	Стресс+тафтцин- ПГП 250 мкг/кг Stress+Taftsin-PGP 250 µ/kg	Стресс+тафтцин- ПГП 80 мкг/кг Stress+Taftsin-PGP 80 µ/kg
Открытые рукава Opened arms					
Время, сек. Time, s	41.36 [35.28; 52.88]	0.16 [0.00; 1.93]***	31.46 [22.74; 57.26]**	8.96 [3.44; 23.64]	46.82 [19.55; 66.260]
Время, % Time, %	13.79 [11.76; 17.62]	0.05 [0.00; 0.57]***	10.18 [7.13; 19.09]**	2.86 [0.97; 7.37]	15.61 [4.87; 22.09]
Дистанция, см Distance, cm	219.14 [192.56; 288.82]	0.65 [0.00; 9.63]***	111.30 [85.40; 329.13]**	43.48 [18.27; 70.37]	289.47 [78.10; 398.45]
Дистанция, % Distance, %	12.25 [11.96; 15.82]	0.02 [0.00; 0.46]***	6.26 [3.41; 12.46]**	2.23 [1.44; 4.02]	16.40 [4.06; 18.57]
Число заходов Entrances	11.0 [4.0; 17.0]	1.0 [0.0; 2.0]×	7.5 [5.0; 10.0]*	5.5 [2.0; 14.0]	9.0 [3.0; 12.0]
Закрытые рукава Closed arm					
Время, сек. Time, s	202.40 [141.00; 244.20]	298.40 [276.40; 318.40]***	219.22 [183.48; 255.87]**	286.94 [267.80; 319.08]	272.97 [118.90; 309.470]
Время, % Time, %	67.47 [46.01; 81.40]	94.35 [91.46; 98.89]***	70.30 [58.52; 78.90]***	91.90 [83.91; 96.82]	80.10 [39.63; 85.50]
Дистанция, см Distance, cm	1479.45 [1145.68; 1504.22]	1798.91 [1380.71; 2185.39]	1803.86 [1511.62; 2043.93]	1916.76 [1611.13; 2190.39]	1425.17 [1156.52; 1661.04]
Дистанция, % Distance, %	75.85 [62.77; 80.78]	95.83 [93.18; 98.58]***	80.10 [76.35; 85.05]**	90.89 [87.50; 96.49]	79.95 [56.81; 86.37]
Число заходов Entrances	9.0 [7.0; 10.0]	4.0 [1.0; 17.0]	5.5 [2.0; 12.0]	11.5 [8.0; 15.0]	4.0 [1.0; 8.0]
Центр Central area					
Время, сек. Time, s	50.92 [19.28; 95.24]	16.25 [3.32; 23.95]×	41.76 [33.30; 62.32]**	16.69 [8.40; 26.32]	32.65 [13.88; 42.730]
Время, % Time, %	16.97 [6.43; 29.93]	4.78 [1.11; 7.75]×	13.73 [10.16; 19.32]**	5.00 [2.31; 8.25]	9.71 [3.59; 14.24]
Дистанция, см Distance, cm	293.35 [123.00; 377.64]	112.36 [16.87; 148.35]×	224.43 [200.34; 270.27]	110.88 [48.95; 175.84]	176.95 [87.09; 231.98]
Дистанция, % Distance, %	14.79 [6.72; 20.26]	4.17 [1.15; 6.35]×	10.05 [9.07; 12.13]***	6.67 [2.05; 7.79]	8.92 [3.58; 13.44]
Число заходов Entrances	20.0 [10.0; 24.0]	4.0 [1.0; 19.0]	13.0 [8.5; 18.5]	10.0 [7.0; 19.0]	17.0 [4.0; 19.0]

Примечание: здесь и далее: × – $p < 0,05$, ×× – $p < 0,01$, ××× – $p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ по сравнению с группой стрессированных животных, получавших изотопический раствор хлорида натрия.

Note: here and further: × – $p < 0,05$, ×× – $p < 0,01$, ××× – $p < 0,001$ as compared with the Control group; * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ as compared to the stressed animals administered with saline.

Таблица 2

Table 2

Показатели поведения экспериментальных животных в teste ОП при введении пептида тафтцина-ПГП
в условиях иммобилизационного стресса

Animals behavior indicators in open-field test when taftsin-PGP administered under conditions of restraint stress

Показатель Indicator	Группа Group				
	Контроль Control	Контроль+стресс Control+stress	Стресс+тафтцин- ПГП 750 мкг/кг Stress+Taftsin-PGP 750 µ/kg	Стресс+тафтцин- ПГП 250 мкг/кг Stress+Taftsin-PGP 250 µ/kg	Стресс+тафтцин- ПГП 80 мкг/кг Stress+Taftsin-PGP 80 µ/kg
Дистанция на периферии, см Distance in periphery, cm	422.17 [240.18; 873.95]	586.89 [320.30; 707.85]	550.65 [330.64; 840.08]	785.60 [426.18; 1074.94]	815.35 [557.89; 993.81]
Дистанция в центре, см Distance in centre, cm	48.11 [23.85; 72.94]	18.12 [15.99; 29.20]××	41.66 [34.83; 51.55]**	49.80 [29.34; 69.96]**	21.20 [16.30; 32.39]
Общая дистанция, см Total distance, cm	459.30 [267.44; 993.02]	621.04 [335.80; 732.49]	599.35 [356.65; 882.29]	825.62 [500.97; 1179.23]	850.74 [577.43; 1089.79]
Число пересеченных периферических квадратов Crossed peripheral squares, count	2 [1; 2]	1 [1; 1]	2 [1; 3]	3 [2; 3]	1 [1; 1]
Число пересеченных центральных квадратов Crossed central squares, count	1 [0; 1]	0 [0; 0]	1 [0; 2]	2 [1; 2]	0 [0; 0]
Время на периферии, сек. Time in periphery, s	287.83 [283.17; 293.40]	297.00 [293.93; 298.03]×	292.58 [287.63; 294.47]	292.00 [286.13; 295.50]	291.60 [286.33; 295.57]
Время в центре, сек. Time in centre, s	12.20 [3.30; 16.67]	2.00 [1.67; 6.03]×	7.45 [4.13; 12.40]	7.65 [4.53; 13.13]	8.43 [1.47; 12.50]
Вытягивания в центре Stretchings in centre, count	0 [0; 1]	1 [0; 2]	2 [0; 8]	1 [0; 3]	1 [0; 1]
Вытягивания на периферии Stretchings in periphery, count	6 [5; 8]	8 [6; 11]	5 [1; 10]	8 [7; 11]	9 [6; 13]
Стойки в центре Rearings in centre, count	6 [5; 7]	1 [1; 1]×××	5 [5; 7]***	5 [3; 7]***	0 [0; 0]
Стойки на периферии Rearings in periphery, count	10 [6; 12]	2 [0; 3]×××	8 [1; 13]*	14 [5; 22]***	9 [5; 12]***

Таблица 2. Окончание

Table 2. End

Показатель Indicator	Группа Group				
	Контроль Control	Контроль+стресс Control+stress	Стресс+тафтцин- ПГП 750 мкг/кг Stress+Taftsin-PGP 750 µ/kg	Стресс+тафтцин- ПГП 250 мкг/кг Stress+Taftsin-PGP 250 µ/kg	Стресс+тафтцин- ПГП 80 мкг/кг Stress+Taftsin-PGP 80 µ/kg
Эмоциональность					
Emotional state					
Болюсы Faecal bolli, count	1 [0; 4]	4 [4; 6]××	1 [0; 1]***	4 [3; 5]	4 [2; 6]
Уринации Urinations, count	1 [0; 2]	1 [1; 2]	1 [0; 1]	2 [0; 2]	0 [0; 1]
Груминг Groomings, count	1 [0; 1]	6 [5; 6]××	1 [0; 2]***	5 [3; 5]	4 [3; 5]

Таким образом, применение селанка приводило к увеличению горизонтальной, вертикальной и локомотивной активности в дозах 750 и 250 мкг/кг, а также снижению уровня эмоциональности в дозе 750 мкг/кг.

Как видно из таблицы 3, 28-дневное стрессовое воздействие в тесте принудительного плавания приводило к увеличению времени иммобилизации и средней продолжительности одной иммобилизации в 7,9 и 2,1 раза соответственно ($p<0,01-0,001$), что свидетельствует о развитии у животных депрессивного поведения. Селанк в дозе 250 мкг/кг корректировал указанные выше стресс индуцированные сдвиги: отмечалось снижение общего времени фризинга и его средней продолжительности в 6,2 и 3,3 раза соответственно ($p<0,01$). Таким образом, установлен антидепрессивный эффект селанка в дозе 250 мкг/кг при его применении с 15-го по 28-й дни стрессирования.

Оценка уровней кортикостерона в сыворотке крови экспериментальных животных показала, что 28-дневное стрессовое воздействие приводило к значимому повышению медианного значения уровня гормона в 4,9 раза ($p<0,05$). Применение селанка в дозах 750 и 250 мкг/кг приводило к значимому снижению концентрации кортикостерона на 63,8% и 51,9% соответственно ($p<0,05$). Пептид в дозе 80 мкг/кг приводил к снижению гормона на 45,7%, однако оно было статистически незначимым ($p>0,05$).

В основе установленных эффектов может находиться способность селанка влиять на метаболизм и рецепцию нейротрансмиттеров. Известно, что пептид может изменять функциональное состояние серотонин- и дофаминергической систем, также оказывать влияние на активность тирозин- и триптофангидроксилазы – ключевых ферментов синтеза катехоламинов и серотонина [20]. Обработка мембран гиппокам-

пальных клеток селанком приводила к изменению количества связанного меченного тритием гамма-аминомасляной кислоты ($[^3\text{H}]ГАМК$) на ГАМК_A-рецепторах, а также изменению количества сайтов специфического связывания $[^3\text{H}]ГАМК$ [21].

Также установлено влияние тафтцина-ПГП на глутаматергическую систему: его введение увеличивало плотность NMDA-рецепторов в гиппокампе у мышей. Кроме того, пептид изменяет экспрессию гена Gria4, который кодирует ионный канал, экспрессирующийся в основном с гиппокампом и обеспечивающий синаптическую пластичность, лигандом для которого является L-глутамат. Также селанк приводил к снижению экспрессии гена Slc1a2, кодирующего высокоаффинный переносчик глутамата, который обеспечивает надлежащую передачу нервного импульса путем удаления глутамата из синаптической щели, его депонирования в виде глутамина, дальнейшего его обратного превращения в глутамат и использованием в качестве нейротрансмиттера [22, 23].

Известна и способность селанка оказывать модулирующее действие на экспрессию мозгового нейтрофического фактора (BDNF): через 3 ч. после его введения крысам Вистар отмечалось увеличение экспрессии мРНК BDNF в гиппокампе и дальнейшее увеличение в нем самого белка BDNF [24, 25].

Еще одним механизмом, лежащим в основе нейротропных эффектов селанка, может быть его влияние на опиоидергическую систему. Так, показана способность селанка снижать активность ферментов карбоксипептидазы и дипептидилкарбоксипептидаз, которые принимают участие в биодеградации энкефалинов, увеличивая время их полужизни ($T_{1/2}$) [26].

Таблица 3

Table 3

Показатели поведения экспериментальных животных в teste принудительного плавания при введении пептида тафтцина-ПГП в условиях иммобилизационного стресса

Animals behavior indicators in forced swimming test when taftsin-PGP administered under conditions of restraint stress

Показатель Indicator	Группа Group				
	Контроль Control	Контроль+стресс Control+stress	Стресс+тафтцин- ПГП 750 мкг/кг Stress+Taftsin-PGP 750 μ kg	Стресс+тафтцин- ПГП 250 мкг/кг Stress+Taftsin-PGP 250 μ kg	Стресс+тафтцин- ПГП 80 мкг/кг Stress+Taftsin-PGP 80 μ kg
Время иммобилизации, % Freezing time, %	18.83 [5.50; 30.73]	69.94 [58.45; 77.80] $\times \times$	61.22 [46.23; 73.30]	11.45 [8.48; 45.87] **	73.90 [57.45; 75.92]
Время иммобилизации, сек. Freezing time, s	22.8 [4.0; 53.6]	180.0 [152.8; 203.8] $\times \times \times$	160.1 [120.1; 193.0]	29.0 [22.2; 116.9] **	190.4 [145.0; 195.9]
Время до первой иммобилизации, сек. First freezing latency, s	67.7 [43.0; 142.1]	38.7 [18.6; 58.8]	24.7 [17.7; 37.1]	66.5 [34.7; 87.4]	12.7 [0.0; 31.7]
Среднее время иммобилизации, сек. Mean freezing time, s	1.90 [1.55; 2.31]	6.94 [6.00; 15.68] $\times \times$	4.00 [3.20; 7.09]	2.12 [1.71; 3.17] **	7.25 [5.94; 8.82]
Число иммобилизаций Immobilizations, count	13 [3; 23]	22 [13; 27]	28 [23; 40]	17 [13; 32]	23 [20; 28]
Частота иммобилизаций, в мин. Immobilizations frequency, per min	5.19 [2.45; 6.81]	5.05 [3.22; 5.92]	6.38 [5.28; 9.18]	5.32 [2.98; 8.22]	5.50 [4.75; 6.57]

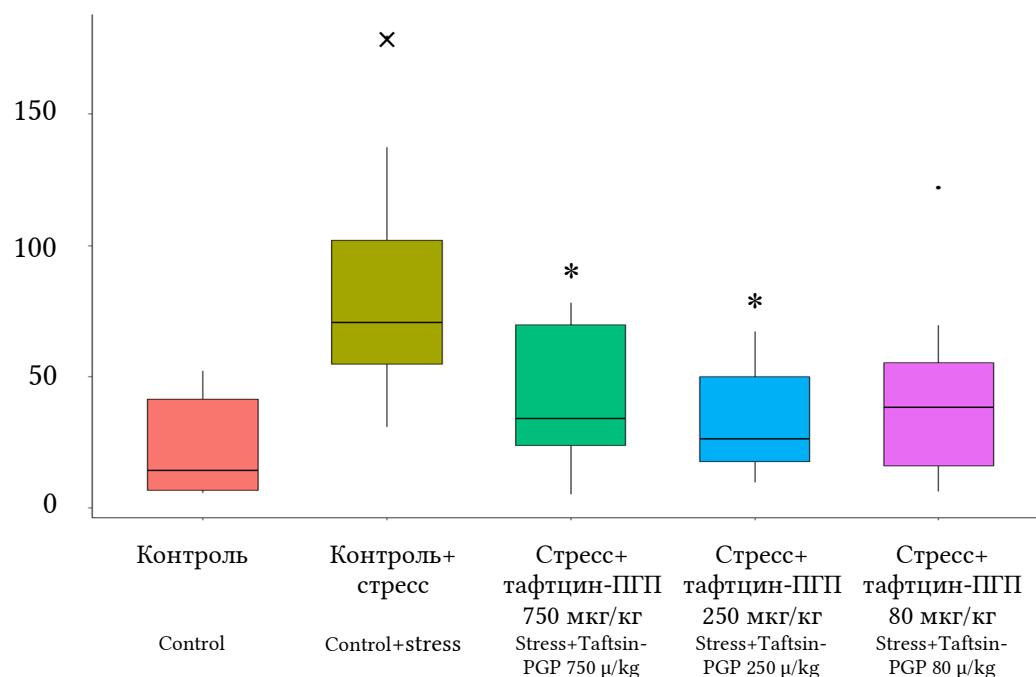


Рис. 2. Влияние тафтцина-ПГП на уровень кортикостерона (мкг/мл) в сыворотке крови крыс в условиях иммобилизационного стресса.

Fig. 2. Effects of taftsin-PGP on the levels of serum corticosterone (μ g/ml) in rats under restraint stress.

В последних исследованиях показано, что селанк способен изменять экспрессию ряда генов, кодирующих ионные каналы, принимающих участие в поддержании электролитного гомеостаза клеток структур центральной нервной системы (например, *Kcnj4*, *Clcnka*, *Scn3b*). Кроме того, установлено, что длительное применение тафтцина-ПГП повышало экспрессию гена трансмембранный переносчика NCX3 (*Slc8a3*), участвующего в поддержании концентрации натрия и кальция в клетке, а также оказывающего нейропротективное действие через PKB/Akt сигнальный путь [22, 27].

Показано, что селанк приводил к повышению экспрессии гена *Gpr85*, кодирующего связанный с G-белком рецептор SREB2 (белок, связывающий стерол-регулирующий элемент 2), который широко представлен в сером веществе (в частности, в зубчатой извилине гиппокампа), и принимает участие в нейрогенезе и поддержании синаптической пластичности.

Также эффекты тафтцина-ПГП на состояние функций нервной системы могут реализовываться через изменение под его действием состава микробиоты толстой кишки и снижение выраженности стресс индуцированных морфологических изменений в ней [7, 9].

Таким образом, 28-дневный иммобилизационный стресс вызывал нарушения функций нервной системы в виде повышения уровня тревожности, горизонтальной, вертикальной, локомотивной активности, эмоциональности и выраженности депрессивного поведения, а также повышение концентрации кортикостерона в сыворотке крови экспериментальных животных. Введение гептапептида тафтцина-ПГП на фоне предварительного стрессирования (с 15-й по 28-й дни эксперимента) способствовало снижению выраженности стресс индуцированных изменений поведения крыс: в дозе 750 мкг/кг пептид оказывал анксиолитическое действие, 250 мкг/кг – антидепрессивное. При этом данные изменения происходили на фоне значимого снижения уровня кортикостерона в сыворотке крови.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Авторы заявляют об отсутствии финансирования.

СООТВЕТСТВИЕ ПРИНЦИПАМ ЭТИКИ

Все исследования проводили с соблюдением принципов Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях; «Руководства по прове-

дению доклинических исследований лекарственных средств» (Москва, 2012) и в соответствии с решением регионального этического комитета при Курском государственном медицинском университете (протокол № 8 от 06.12.2019 г.).

ЛИЧНЫЙ ВКЛАД АВТОРОВ

Бобынцев И.И. – разработка концепции и дизайна исследования, обоснование рукописи и проверка критически важного интеллектуального содержания; окончательное утверждение для публикации рукописи; Кривошлыкова М.С. – сбор материала, анализ и интерпретация данных, написание манускрипта; Медведева О.А. – разработка концепции и дизайна исследования; проверка критически важного интеллектуального содержания; Ворвуль А.О. – сбор материала, анализ и интерпретация данных, написание манускрипта; Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. – разработка концепции и дизайна исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Koroleva S.V., Mjasoedov N.F. Physiological effects of Selank and its fragments. *Biol Bull.* 2019;46(4): 407–414. DOI: 10.1134/S1062359019040071.
2. Vorvul A.O., Bobyntsev I.I., Svishcheva M.V., Medvedeva O.A., Mukhina A.Y., Andreeva L.A. The Peptide ACTH₄₋₇-PGP Corrects Behavior and Corticosterone Levels in Rats in Chronic Stress. *Neurosci Behav Physiol.* 2022;52(4):574–581. DOI: 10.1007/s11055-022-01277-5.
3. Vorvul A.O., Bobyntsev I.I., Medvedeva O.A., Mukhina A.Y., Svishcheva M.V., Azarova I.E., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. ACTH(6-9)-Pro-Gly-Pro ameliorates anxiety-like and depressive-like behaviour and gut mucosal microbiota composition in rats under conditions of chronic restraint stress. *Neuropeptides.* 2022;93:102247. DOI: 10.1016/j.npep.2022.102247.
4. Volodina M.A., Sebentsova E.A., Glazova N.Y., Manchenko D.M., Inozemtseva L.S., Dolotov O.V., Andreeva L.A., Levitskaya N.G., et al. Correction of long-lasting negative effects of neonatal isolation in white rats using semax. *Acta Naturae.* 2012;4(1):86–92.
5. Chiba S., Numakawa T., Ninomiya M., Richards M.C., Wakabayashi C., Kunugi H. Chronic restraint stress causes anxiety- and depression-like behaviors, down-regulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2012;39(1):112–119. DOI: 10.1016/j.pnpbp.2012.05.018.
6. Мухина А.Ю., Медведева О.А., Свищева М.В., Шевченко А.В., Ефремова Н.Н., Бобынцев И.И., Калуцкий П.В. Оценка состояния микробиоценоза толстой кишки экспериментальных животных в условиях иммобилизационного стресса. *Астраханский медицинский журнал.* 2019;14(1):54–60 [Mukhina A.Yu., Medvedeva O.A., Svishcheva M.V., Shevchenko A.V., Efremova N.N., Bobyntsev I.I., Kalutskiy P.V. State of experimental animals' colon microbiocenosis under restraint stress. *Astrakhan medical journal.* 2019;14(1):54–60 (in Russ.)].

- DOI: 10.17021/2019.14.1.54.60. EDN: WVCDQS.
7. Mukhina A.Y., Medvedeva O.A., Svishcheva M.V., Shevchenko A.V., Efremova N.N., Bobyntsev I.I., Kalutskii P.V., Andreeva L.A., et al. State of Colon Microbiota in Rats during Chronic Restraint Stress and Selank Treatment. *Bull Exp Biol Med*. 2019;167(2):226–228.
DOI: 10.1007/s10517-019-04496-y.
8. Svishcheva M.V., Mukhina A.Y., Medvedeva O.A., Shevchenko A.V., Bobyntsev I.I., Kalutskii P.V., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Composition of Colon Microbiota in Rats Treated with ACTH(4-7)-PGP Peptide (Semax) under Conditions of Restraint Stress. *Bull Exp Biol Med*. 2020;169(3):357–360.
DOI: 10.1007/s10517-020-04886-7.
9. Мухина А.Ю., Медведева О.А., Свищева М.В., Шевченко А.В., Ефремова Н.Н., Бобынцев И.И., Калуцкий П.В., Андреева Л.А. и др. Оценка состояния микробиоценоза толстой кишки крыс в условиях хронического иммобилизационного стресса и применения Селанка. *Инфекция и иммунитет*. 2019;9(5–6):805–810 [Mukhina A.Yu., Medvedeva O.A., Svishcheva M.V., Shevchenko A.V., Efremova N.N., Bobyntsev I.I., Kalutsky P.V., Andreeva L.A., et al. State of rat colon microbiocenosis in chronic restraint stress treated with Selank. Russian journal of infection and immunity. 2019;9(5–6):805–810 (in Russ.)]. DOI: 10.15789/2220-7619-2019-5-6-805-810. EDN: QFJPGY.
10. Mukhina A.Y., Mishina E.S., Bobyntsev I.I., Medvedeva O.A., Svishcheva M.V., Kalutskii P.V., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Morphological Changes in the Large Intestine of Rats Subjected to Chronic Restraint Stress and Treated with Selank. *Bull Exp Biol Med*. 2020;169(2):281–285.
DOI: 10.1007/s10517-020-04868-9.
11. Svishcheva M.V., Mishina Y.S., Medvedeva O.A., Bobyntsev I.I., Mukhina A.Y., Kalutskii P.V., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Morphofunctional State of the Large Intestine in Rats under Conditions of Restraint Stress and Administration of Peptide ACTH(4-7)-PGP (Semax). *Bull Exp Biol Med*. 2021;170(3):384–388.
DOI: 10.1007/s10517-021-05072-z.
12. Ворвуль А.О., Бобынцев И.И., Мишина Е.С., Медведева О.А., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. Влияние пептида АКТГ₆₋₉-Pro-Gly-Pro на морфофункциональное состояние толстой кишки крыс в условиях хронического иммобилизационного стресса. *Бюллетень Сибирской Медицины*. 2023;22(2):14–20 [Vorvul A.O., Bobyntsev I.I., Mishina E.S., Medvedeva O.A., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Effects of the ACTH₆₋₉-Pro-Gly-Pro peptide on the morphofunctional state of rat colon under conditions of chronic restraint stress. Bulletin of Siberian Medicine. 2023;22(2):14–20 (in Russ.)]. DOI: 10.20538/1682-0363-2023-2-14-20.
EDN: XQDMAJ.
13. Walf A.A., Frye C.A. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc*. 2007;2(2):322–328.
DOI: 10.1038/nprot.2007.44.
14. Kraeuter A.-K., Guest P.C., Sarnyai Z. The elevated plus maze test for measuring anxiety-like behavior in rodents. In: Guest P.C., editor. *Pre-Clinical Models: Techniques and Protocols*. New York, NY: Springer New York; 2019:69–74.
15. Миронов А.Н., под ред. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*. Том I. Москва: Гриф и К; 2012. 944 с. [Mironov A.N., editor. *Guidelines for conducting pre-clinical studies of medicines*. Volume I. Moscow: Grif I K, 2012. 944 p. (in Russ.)]. EDN: SDEWMP.
16. Gould T.D., Dao D.T., Kovacsics C.E. The Open Field Test. *Neuromethods*. 2009;42:1–20. DOI: 10.1007/978-1-60761-303-9_1.
17. Kraeuter A.-K., Guest P.C., Sarnyai Z. The Forced Swim Test for Depression-Like Behavior in Rodents. In: Guest P.C., editor. *Pre-Clinical Models: Techniques and Protocols*. New York, NY: Springer New York; 2019:75–80. DOI: 10.1007/978-1-4939-8994-2_5.
18. Armario A. The forced swim test: Historical, conceptual and methodological considerations and its relationship with individual behavioral traits. *Neurosci Biobehav Rev*. 2021;128:74–86.
DOI: 10.1016/j.neubiorev.2021.06.014.
19. Зозуля А.А., Незнамов Г.Г., Сюняков Т.С., Кац П.В., Габаева М.В., Соколов О.Ю., Серебрякова Е.В., Сиранчиева О.А., Андрющенко А.В., и др. Эффективность и возможные механизмы действия нового пептидного анксиолитика Селанка при терапии генерализованного тревожного расстройства и неврастении. *Журнал неврологии и психиатрии им С.С. Корсакова*. 2008;108(4):38–48 [Zozulya A.A., Neznamov G.G., Syunyakov T.S., Kast P.V., Gabaeva M.V., Sokolov O.Yu., Serebryakova E.V., Siranchieva O.A., et al. Efficacy and possible mechanisms of action of a new peptide anxiolytic Selank in the therapy of generalized anxiety disorders and neurasthenia. *S.S. Korsakov Journal of neurology and psychiatry*. 2008;108(4):38–48 (in Russ.)]. EDN: ISJLQR.
20. В'yunova T.V., Andreeva L.A., Shevchenko K.V., Shevchenko V.P., Myasoedov N.F. Peptide regulation of specific ligand-receptor interactions of GABA with the plasma membranes of nerve cells. *Neurochem J*. 2014;8:259–264. DOI: 10.1134/S1819712414040114.
21. Kolomin T.A., Agapova T.Y., Shadrina M.I., Slomin-skii P.A., Limborskaya S.A., Agniullin Y.V., Shram S.I., Myasoedov N.F. Changes in the transcription profile of the hippocampus in response to administration of the tuftsin analog Selank. *Neuroscience and Behavioral Physiology*. 2014;44(8):849–855.
DOI: 10.1007/s11055-014-9992-4.
22. Kanner B.I. Glutamate transporters from brain. A novel neurotransmitter transporter family. *FEBS Lett*. 1993;325(1-2):95–99. DOI: 10.1016/0014-5793(93)81421-u.
23. Kolik L.G., Nadorova A.V., Antipova T.A., Kruglov S.V., Kudrin V.S., Durnev A.D. Selank, Peptide Analogue of Tuftsin, Protects Against Ethanol-Induced Memory Impairment by Regulating of BDNF Content in the Hippocampus and Prefrontal Cortex in Rats. *Bull Exp Biol Med*. 2019;167(5):641–644.
DOI: 10.1007/s10517-019-04588-9.

24. Inozemtseva L.S., Karpenko E.A., Dolotov O.V., Levitskaya N.G., Kamensky A.A., Andreeva L.A., Grivennikov I.A. Intranasal administration of the peptide Selank regulates BDNF expression in the rat hippocampus *in vivo*. *Dokl Biol Sci.* 2008;421:241–243. DOI: 10.1134/s0012496608040066.
25. Зозуля А.А., Кост Н.В., Соколов О.Ю., Габаева М.В., Гривенников И.А., Андреева Л.А., Золотарев Ю.А., Иванов С.В. и др. Ингибирующий эффект Селанка на активность энкефалиндецирующих ферментов как один из возможных механизмов его анксиолитического действия. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2001;131(4):376–378 [Zozulya A.A., Kost N.V., Sokolov O.Yu., Gabayeva M.V., Grivennikov I.A., Andreyeva L.A., Zolotarev Yu.A., Ivanov S.V., et al. The inhibitory effect of Selank on the activity of enkephalin-degrading enzymes as one of the possible mechanisms of its anxiolytic action. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2001;131(4):376–378 (in Russ.)].
26. Gabellini N. Transcriptional regulation by cAMP and Ca^{2+} links the Na^+/Ca^{2+} exchanger 3 to memory and sensory pathways. *Mol Neurobiol.* 2004;30(1):91–116. DOI: 10.1385/MN:30:1:091.

Поступила в редакцию 14.05.2023

Подписана в печать 25.11.2023

Для цитирования: Бобынцев И.И., Кривошлыкова М.С., Медведева О.А., Ворвуль А.О., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. Состояние функций нервной системы крыс Вистар при применении пептида тафтцин-пгп (селанк) в условиях иммобилизационного стресса. *Человек и его здоровье*. 2023;26(3):58–68. DOI: 10.21626/vestnik/2023-3/07. EDN: JVDAJU.

STATE OF NERVOUS SYSTEM FUNCTIONS OF WISTAR RATS WHEN USING PEPTIDE TAFTSIN-PGP (SELANK) IN RESTRAINT STRESS

© Bobyntsev I.I.¹, Krivoshlykova M.S.¹, Medvedeva O.A.¹, Vorvul A.O.¹, Andreeva L.A.², Myasoedov N.F.²

¹ Kursk State Medical University (KSMU)

3, K. Marx St., Kursk, Kursk region, 305041, Russian Federation

² National Research Centr «Kurchatov Institute» (NRC « Kurchatov Institute»)

1, Academician Kurchatov Sqr., Moscow, 123182, Russian Federation

The aim of the study was to investigate the state of functions of the nervous system of Wistar rats upon application of the peptide taftsin-PGP under conditions of chronic stress.

Materials and methods. The experiments were performed on 45 male Wistar rats weighing 200-230 g. Selank peptide (Thr-Lys-Pro-Arg-Pro-Gly-Pro) was injected intraperitoneally at doses of 80, 250 and 750 µg/kg 15 min before stressor exposure. Animals were divided into 5 groups (n = 9): 1 – control (non-stressed animals injected with saline); 2 – stress (stressed animals injected with saline); 3-5 – stress+taftsin-PGP at doses of 80, 250 and 750 µg/kg. Animals were stressed for 28 days; from days 15 to 28, they were injected with selank/saline. The neurotropic effects of selank were evaluated in the elevated plus-maze, open field (OF) and forced swimming tests. To assess the severity of stress response, the concentration of corticosterone in rat serum was evaluated using enzyme immunoassay.

Results. It was found that 28-day immobilisation stress caused disturbances of nervous system functions in the form of increased anxiety, horizontal, vertical, locomotor activity, emotionality and expression of depressive behaviour, as well as increased concentration of corticosterone in blood serum of experimental animals. Taftsin-PGP administration against the background of preliminary stressing (from the 15th to the 28th day of the experiment) contributed to a decrease in the severity of stress-induced behavioural changes in rats: at a dose of 750 µg/kg the peptide had anxiolytic effect, 250 µg/kg – antidepressant effect. At the same time, these changes occurred against the background of a significant decrease in serum corticosterone level.

Conclusion. Thus, selank corrects stress-induced changes in the state of nervous system functions under 28-day restraint stress.

Keywords: taftsin-PGP (selank); restraint stress; anxiety; depression; emotionality; locomotor activity; corticosterone.

Bobyntsev Igor I. – Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department of Pathophysiology, Head of the Research Institute of General Pathology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0001-7745-2599. E-mail: bobig@mail.ru

Krivoshlykova Marina S. – Assistant lecturer at the Department of Pharmacology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0009-0005-2426-358X. E-mail: lew_marina@mail.ru (corresponding author).

Medvedeva Olga A. – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of Department of Microbiology, Virology, Immunology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-2889-155X. E-mail: olgafrida@rambler.ru

Vorvul Anton O. – Assistant lecturer at the Department of Pathophysiology, Junior Researcher at the Research Institute of General Pathology, KSMU, Kursk, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-1529-6014. E-mail: vorvul1996@mail.ru

Andreeva Liudmila A. – Deputy Head of the Laboratory of Molecular pharmacology of peptides, NRC « Kurchatov Institute», Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0002-3927-8590. E-mail: landr@img.ras.ru

Myasoedov Nikolai F. – Dr. Sci. (Chem.), Professor, Head of the Laboratory of Molecular pharmacology of peptides, NRC « Kurchatov Institute», Moscow, Russian Federation. ORCID iD: 0000-0003-1294-102X. E-mail: nfm@img.ras.ru

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

SOURCE OF FINANCING

The authors state that there is no funding for the study.

COMPLIANCE WITH THE PRINCIPLES OF ETHICS

All studies were conducted in compliance with the principles of the European Convention for the Protection of Vertebrates Used in Experimental Research; the Guidelines for Conducting Preclinical Studies of Medicines (Moscow, 2012) and in accordance with the decision of the Regional Ethics Committee under Kursk State Medical University (Protocol No. 8 of 06.12.2019).

AUTHORS CONTRIBUTION

Bobyntsev I.I. – development of the research concept and design, justification of the manuscript and verification of critical intellectual content; final approval for publication of the manuscript; Krivoshlykova M.S. – collection of material, analysis and interpretation of data, writing of the manuscript; Medvedeva O.A. – development of the research concept and design; verification of critical intellectual content; Vorvul A.O. – collecting material, analyzing and interpreting data, writing a manuscript; Andreeva L.A., Myasoedov N.F. – development of the concept and design of the study.

Received 14.05.2023

Accepted 25.11.2023

For citation: Bobyntsev I.I., Krivoshlykova M.S., Medvedeva O.A., Vorvul A.O., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. State of nervous system functions of Wistar rats when using peptide taftsin-PGP (selank) in restraint stress. *Humans and their health*. 2023;26(3):58-68. DOI: 10.21626/hestnik/2023-3/07. EDN: JVDAJU.