

**ВЛИЯНИЕ АНАЛОГОВ N-КОНЦЕВЫХ ФРАГМЕНТОВ АКТГ/МСГ  
НА УРОВЕНЬ ТРЕВОЖНОСТИ, БОЛЕВУЮ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ  
И УРОВНИ НЕЙРОТРОФИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ BDNF И VEGF  
В ПЕРВИЧНЫХ КУЛЬТУРАХ НЕЙРОНОВ МОЗГА КРЫСЫ**

© 2024 г. Н. Ю. Глазова<sup>1,2</sup>, Д. М. Манченко<sup>1</sup>, Е. А. Себенцова<sup>1,2</sup>, Л. А. Андреева<sup>2</sup>,  
И. А. Гривенников<sup>2</sup>, О. В. Долотов<sup>1,2</sup>, Н. Ф. Мясоедов<sup>2</sup>, Н. Г. Левицкая<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup>Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва, Россия

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

Поступила в редакцию 25.06.2024 г.

После доработки 03.09.2024 г.

Принята к публикации 01.10.2024 г.

АКТГ/МСГ-подобные пептиды (меланокортины) обладают широким спектром нейротропных эффектов, в том числе влияют на процессы обучения и памяти, нейропротекцию, эмоциональный статус и болевую чувствительность. Данная работа посвящена сравнению нейротропных эффектов пептидов, структура которых включает в себя природный фрагмент АКТГ и стабилизирующий трипептид PGP. В работе были использованы пептиды – АКТГ<sub>4-7</sub>-PGP (семакс), АКТГ<sub>6-9</sub>-PGP и АКТГ<sub>7-10</sub>-PGP. Изучалось влияние этих пептидов на исследовательское поведение, уровень тревожности и болевую чувствительность белых крыс, а также на уровни нейротрофических факторов BDNF (brain derived neurotrophic factor) и VEGF (vascular endothelial growth factor) в первичных культурах нейронов мозга крысы. Сравнительное исследование эффектов аналогов различных фрагментов АКТГ/МСГ позволило выявить как сходство, так и различия их нейротропной активности. Пептиды, в структуре которых присутствует фрагмент АКТГ<sub>4-7</sub> или АКТГ<sub>6-9</sub>, обладают ноотропной, анксиолитической и анальгетической активностью, а также вызывают повышение уровней VEGF в культуре нейронов гиппокампа. Пептид, содержащий в структуре последовательность АКТГ<sub>7-10</sub>, проявляет анксиолитическую активность, увеличивает исследовательское поведение, не влияет на болевую чувствительность и оказывает стимулирующее влияние на уровни BDNF и VEGF в нейрональных культурах. Полученные данные свидетельствуют о том, что разные участки N-концевой области молекулы АКТГ ответственны за проявление определенных нейротропных эффектов меланокортинов. Результаты исследования могут быть использованы при разработке лекарственных препаратов на основе природных меланокортинов.

*Ключевые слова:* меланокортины, фрагменты АКТГ, синтетические аналоги, тревожность, болевая чувствительность, нейротрофические факторы, крысы

## ВВЕДЕНИЕ

Меланокортины – это семейство нейропептидных гормонов, которое включает в себя адренокортикотропный гормон (АКТГ), три различные формы меланоцитстимулирующего гормона ( $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\gamma$ -МСГ), фрагменты этих гормонов и их синтетические аналоги. Меланокортины (МК), рецепторы МК и эндогенные антагонисты этих рецепторов образуют меланокортиновую систему организма [1]. МК система вовлечена в регуляцию широкого круга физиологических функций, включая стероидогенез, пигментацию, иммунную систему, нейропротекцию, память и внимание, эмоциональный статус, болевую чувствительность и другие функции [2–4]. МК система играет важную роль в модуляции ряда патологических процессов, в том числе при нейродегенеративных и нервно-психических заболеваниях [4, 5]. В настоящее время охарактеризовано 5 типов МК-рецепторов (MCR1 – MCR5), которые различаются по распределению в тканях и по родству к различным лигандам [6]. Все эндогенные МК содержат в своей структуре последовательность HFRW, соответствующую фрагменту АКТГ/ $\alpha$ -МСГ<sub>6,9</sub> [7]. Тетрапептид HFRW является минимальным фрагментом, который способен активировать MCR, но этот пептид обладает очень низкой активностью и селективностью, что свидетельствует о важности остатков вне общей последовательности [8, 9].

Ответственной за нейротропные эффекты МК является N-концевая область молекулы АКТГ/МСГ – фрагмент АКТГ<sub>4-10</sub> (MENFRWG) [7]. Гептапептид АКТГ<sub>4-10</sub> способен связываться с MCR, обладает ноотропной, нейропротекторной и анальгетической активностью, участвует в регуляции ответа организма на стрессорные воздействия [2, 10, 11]. Нейротропную активность сохраняют также фрагменты природных пептидов и их аналоги, в структуре которых присутствуют последовательности АКТГ<sub>4-7</sub>, АКТГ<sub>6-9</sub> или АКТГ<sub>7-10</sub> [10, 12, 13]. Предполагается, что активные центры для различных нейротропных эффектов могут находиться в разных локусах N-концевой области молекулы АКТГ [13, 14]. Фрагменты АКТГ/МСГ могут взаимодействовать с МК-рецепторами как смещенные лиганды, что приводит к активации различных сигнальных каскадов, опосредующих разные эффекты пептидов [4, 15]. Кроме того, МК могут выступать в роли аллостерических модуляторов активности рецепторов других нейромедиаторных систем [16]. Такие свойства могут определять разнообразные поведенческие эффекты коротких фрагментов АКТГ/МСГ.

Зависимость нейротропных эффектов МК от структуры в настоящее время недостаточно исследована. Изучение взаимосвязи структура – активность позволит выявить последовательности, ответственные за проявление определенных эффектов, что необходимо для разработки новых аналогов МК с заданными свойствами [17].

Короткие фрагменты АКТГ либо не способны активировать известные МК-рецепторы (АКТГ<sub>4-7</sub> и АКТГ<sub>7-10</sub>), либо обладают очень низкой активностью (АКТГ<sub>6-9</sub>), что может быть связано с их быстрой протеолитической деградацией [8, 14]. Ранее было показано, что присоединение последовательности, обогащенной пролином, к природным пептидам, обладающим нейротропной активностью, приводит к увеличению выраженности действия и пролонгации их эффектов [18, 19]. Такой подход был использован при разработке гептапептида семакс (MENFPGP), структура которого включает в себя фрагмент АКТГ<sub>4-7</sub> и стабилизирующий трипептид PGP (АКТГ<sub>4-7</sub>PGP). Исследования показали, что семакс обладает ноотропной, анксиолитической и анальгетической активностью [20–22]. Кроме того, семакс оказывал нейротрофическое действие в экспериментах *in vivo* и *in vitro* – увеличивал экспрессию нейротрофического фактора мозга (brain derived neurotrophic factor, BDNF) в первичной культуре глиальных клеток [23] и в структурах мозга крыс при системном введении [24]. В дальнейшем были синтезированы и исследованы пептиды АКТГ<sub>6-9</sub>PGP и АКТГ<sub>7-10</sub>PGP (HFRWPGP и FR-WGPGP). Было показано, что гептапептид АКТГ<sub>6-9</sub>PGP, как и семакс, проявляет ноо-

тропную активность, однако длительность его действия меньше, чем у семакса [25]. АКТГ<sub>6-9</sub>PGP оказывал антистрессорное действие в моделях острого и хронического стресса, проявлял нейропротекторную активность, а также снижал реакцию животных на болевое термическое раздражение [3, 26, 27]. Изучение физиологической активности АКТГ<sub>7-10</sub>PGP показало, что этот пептид проявляет анксиолитическую активность, способен улучшать обучение крыс в тестах с отрицательным подкреплением, однако, в отличие от семакса, его введение приводит к росту числа ошибочных реакций при обучении с положительным подкреплением [28]. Влияние АКТГ<sub>7-10</sub>PGP на болевую чувствительность ранее не исследовалось.

В настоящее время показано, что фактор роста эндотелия сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF), первоначально рассматривавшийся как фактор, специфический для эндотелия, оказывает прямое воздействие на нейроны и глиальные клетки, регулируя их рост и дифференцировку [29]. Наряду с более изученным BDNF, VEGF является важным участником ряда гиппокамп-зависимых процессов, в том числе связанных с регуляцией когнитивных функций и эмоций. VEGF способен стимулировать синаптическую пластичность, усиливать нейрогенез, улучшать обучение и эмоциональное состояние животных [29, 30]. Показано, что  $\alpha$ -МСГ стимулирует экспрессию VEGF в первичной культуре астроцитов гиппокампа крысы, что указывает на возможную роль этого фактора в нейропротекторных и когнитивных эффектах МК [31]. Влияние N-концевых фрагментов АКТГ/МСГ и их аналогов на экспрессию VEGF ранее не исследовалось.

Изучение нейротропных эффектов семакса, АКТГ<sub>6-9</sub>PGP и АКТГ<sub>7-10</sub>PGP проводилось в различных экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo*, с использованием разных доз и способов введения пептидов, что затрудняет сравнение полученных результатов. Для сопоставления активности пептидов нами было проведено исследование нейротрофических, анксиолитических и анальгетических эффектов аналогов N-концевых фрагментов АКТГ в одинаковых экспериментальных условиях.

Целью представленной работы явилось сравнительное исследование эффектов гептапептидов семакс, АКТГ<sub>6-9</sub>PGP и АКТГ<sub>7-10</sub>PGP на болевую чувствительность и уровень тревожности крыс, а также на уровни нейротрофических факторов BDNF и VEGF в первичных культурах нейронов мозга крысы.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали следующие синтетические меланокортины – АКТГ<sub>4-7</sub>PGP (МЕНFPGP, семакс), АКТГ<sub>6-9</sub>PGP (HFRWPGP) и АКТГ<sub>7-10</sub>PGP (FRWGPGP). Пептиды были синтезированы в Лаборатории молекулярной фармакологии пептидов Национального исследовательского центра “Курчатовский институт”.

### *Эксперименты на первичных культурах нейронов гиппокампа и коры больших полушарий мозга крысы*

В работе использовали первичные культуры нейронов гиппокампа и коры больших полушарий эмбрионов (E17) крыс линии Sprague-Dawley. Ткани механически диссоциировали, клетки высевали плотностью 150 тысяч клеток на лунку в обработанные поли-L-лизинном 96-луночные полистирольные планшеты (Nunc) и культивировали при 37 °C в 100 мкл стандартной бессывороточной среды N2 [32], содержащей дополнительно 15 мМ NEPEPES. После культивирования в течение 5 суток в культуральную среду вносили стерильные растворы исследуемых пептидов до указанной концентрации. В качестве контроля добавляли эквивалентный объем растворителя. Через 24 ч после внесения пептидов отбирали культуральную среду и вносили холодный (4 °C) экстракционный буфер [33]. После инкубации в течение 15 мин

при 4 °С и четырех циклов замораживания – размораживания клеточные экстракты центрифугировали 1 ч при 15000 g (4 °С), супернатанты отбирали и хранили при –70 °С. Оценку уровней BDNF и VEGF в полученных лизатах проводили с помощью иммуоферментного анализа с использованием наборов “BDNF Emax” (Promega) и “Rat VEGF Construction Kit” (Antigenix) согласно методикам и рекомендациям производителей.

#### *Эксперименты на животных*

Работа выполнена на 170 самцах крыс Wistar массой 220–250 г, полученных из питомника “Столбовая” (Московская область, Россия). Животных содержали в стандартных условиях вивария с соблюдением 12-часового светового режима и свободным доступом к воде и стандартному лабораторному корму. До начала эксперимента для всех крыс проводили 10-дневную адаптацию – ежедневный хэндлинг в течение 1–2 мин.

При изучении влияния пептидов на поведение крыс препараты вводили интраназально (и/н) за 15 мин до тестирования. Пептиды вводили бодрствующим животным в дозе 0.05 мг/кг в водном растворе в объеме 0.1 мл/кг массы тела. Дозы пептидов, время и способ введения были выбраны на основании ранее проведенных исследований влияния аналогов фрагментов АКТГ на поведение животных [20, 25, 28]. При изучении влияния пептидов на болевую чувствительность крыс препараты вводили внутрибрюшинно (в/б) в дозе 0.5 мг/кг в водном растворе в объеме 1 мл/кг массы тела. Ранее нами было показано, что семакс при в/б введении оказывает анальгетическое действие, при этом наиболее эффективной является доза 0.5 мг/кг. При и/н введении семакс не оказывал влияния на болевую чувствительность крыс [34]. На основании этих данных были выбраны дозы и способ введения пептидов для исследования их влияния на болевую чувствительность крыс. Во всех экспериментах контрольным животным вводили эквивалентный объем воды для инъекций в соответствующие сроки и соответствующим способом.

#### *Тест “приподнятый крестообразный лабиринт”*

Для оценки исследовательского поведения и уровня тревожности животных использовали тест “приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ). Экспериментальная камера лабиринта состоит из четырех расходящихся из центра рукавов. Два противоположных рукава закрыты с торцов стенками; два других – открыты. Проводили две серии независимых экспериментов на разных животных. В первом случае животных тестировали при однородном неярком освещении (освещенность открытых рукавов – 45 лк, закрытых – 20 лк), во втором – при контрастном освещении рукавов (закрытые рукава затемнены – 8 лк, открытые – ярко освещены – 450 лк). Крысу помещали в центр лабиринта и в течение 5 мин регистрировали время нахождения на открытых и закрытых рукавах лабиринта, количество заходов в открытые и закрытые рукава, а также число стоек и свешиваний с открытых рукавов.

#### *Тест “сдавливания задней лапы”*

Для оценки болевой чувствительности животных использовали тест “сдавливания задней лапы”, в котором было ранее зарегистрировано анальгетическое действие семакса. В данном тесте болевым раздражителем служит равномерно нарастающее давление на заднюю конечность. Измерение проводили 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 возрастанию 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 инъекции проводили 6 измерений болевой чувствительности с интервалом 15 мин. Выраженность анальгетического действия оценивали в процентах к максимально возможному эффекту. Для этого при статистической обработке данных для каждого животного при каждом измерении вычисляли относительное изменение болевой чувствительности по формуле:  $(P_i - P_0) / (P_{\max} - P_0) \times 100$ , где  $P_i$  – величина болевого порога при измерении,  $P_0$  – фоновая болевая чувствительность,  $P_{\max}$  – максимальная нагрузка на конечность [35].

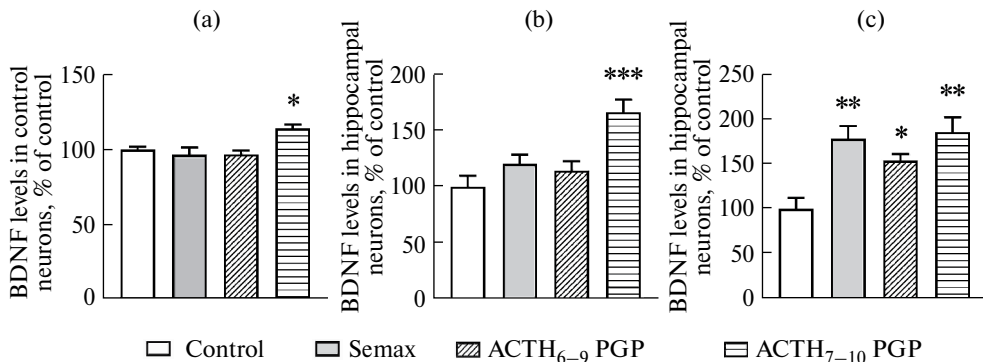
### *Статистическая обработка данных*

Статистическую обработку данных производили при помощи пакетов программ “Statistica 10” и “GraphPad Prism 8”. Анализ выборок показал соответствие распределения критериям нормального ( $p > 0.20$ ; критерии Колмогорова – Смирнова и Шапиро – Уилка) и равенство дисперсий ( $p > 0.10$ , тест Брауна – Форсайта), что позволило нам использовать дисперсионный анализ (ANOVA). Анализ результатов теста ПКЛ и уровней BDNF и VEGF проводили с использованием однофакторного ANOVA для межгруппового фактора ПЕПТИД (контроль vs. семакс vs. АКТГ<sub>6,9</sub>PGP vs. АКТГ<sub>7,10</sub>PGP) с последующим post hoc анализом с использованием критерия Даннетта. При анализе влияния каждого пептида на изменения болевого порога применяли двухфакторный ANOVA с повторными измерениями (repeated ANOVA) для межгруппового фактора ПЕПТИД (контроль vs. пептид) и внутригруппового фактора ВРЕМЯ (время после введения препарата). В случае достоверного влияния указанных факторов или их взаимодействия проводили post hoc анализ с использованием критерия Фишера (Fisher LSD test). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ . Данные на графиках представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *1. Влияние семакса, АКТГ<sub>6,9</sub>PGP и АКТГ<sub>7,10</sub>PGP на уровни нейротрофических факторов в первичных культурах нейронов гиппокампа и коры больших полушарий мозга крысы*

Исследовалось влияние гептапептидов в концентрации 0.1 нМ на содержание BDNF и VEGF в нейрональных культурах. Использование однофакторного ANOVA показало значимое влияние фактора ПЕПТИД на уровни BDNF в культуре нейронов коры больших полушарий ( $F_{3,20} = 6.75$ ;  $p < 0.003$ ). Множественное сравнение показало статистически значимое увеличение уровней BDNF при введении АКТГ<sub>7,10</sub>PGP относительно контрольных значений ( $p < 0.02$ ) (рис. 1). Значимых изменений уровней BDNF в культивируемых нейронах коры больших полушарий мозга крысы через 24 ч после введения семакса или АКТГ<sub>6,9</sub>PGP в концентрации 0.1 нМ обнаружено не было ( $p > 0.70$ ). При оценке влияния препаратов на уровни BDNF в культуре нейронов гиппокампа было зарегистрировано статистически значимое влияние фактора ПЕПТИД ( $F_{3,12} = 9.08$ ;  $p < 0.002$ ; ANOVA). Введение АКТГ<sub>7,10</sub>PGP приводило к значимому увеличению содержания BDNF в культуре по сравнению с контролем ( $p = 0.001$ ). Введение семакса или АКТГ<sub>6,9</sub>PGP в концентрации 0.1 нМ не приводило к значимому изменению уровней BDNF ( $p > 0.30$ ). Оценка воздействия пептидов на уровни VEGF в культуре нейронов гиппокампа продемонстрировала статистически значимое влияние фактора ПЕПТИД ( $F_{3,12} = 9.09$ ;  $p < 0.002$ ; ANOVA). Дальнейший анализ показал, что введение всех исследуемых пептидов в концентрации 0.1 нМ приводит к значимому повышению уровней нейротрофина в культуре ( $p < 0.03$ ).



**Рис. 1.** Влияние семакса, АКТГ<sub>6-9</sub>PGP и АКТГ<sub>7-10</sub>PGP на уровни BDNF и VEGF в культивируемых нейронах коры больших полушарий и гиппокампа эмбрионов крысы. (а) – уровни BDNF в нейронах коры больших полушарий; (б) – уровни BDNF в нейронах гиппокампа; (с) – уровни VEGF в нейронах гиппокампа. Уровни BDNF и VEGF в белковых экстрактах клеток измеряли через 24 ч после введения пептидов в концентрации 0.1 нМ. В каждой группе по 6 (кора БП) или 4 (гиппокамп) клеточных культуры. Средние значения уровней BDNF в контрольных клеточных культурах нейронов гиппокампа и коры составляли 4.63 и 2.38 пг/100 тысяч высеванных клеток соответственно; среднее значение уровней VEGF в контрольных клеточных культурах нейронов гиппокампа составляло 56.21 пг/100 тысяч высеванных клеток. Данные представлены в виде среднего ± стандартная ошибка среднего. Статистически значимые отличия от контроля отмечены \* ( $p < 0.05$ ), \*\* ( $p < 0.01$ ) и \*\*\* ( $p < 0.001$ ).

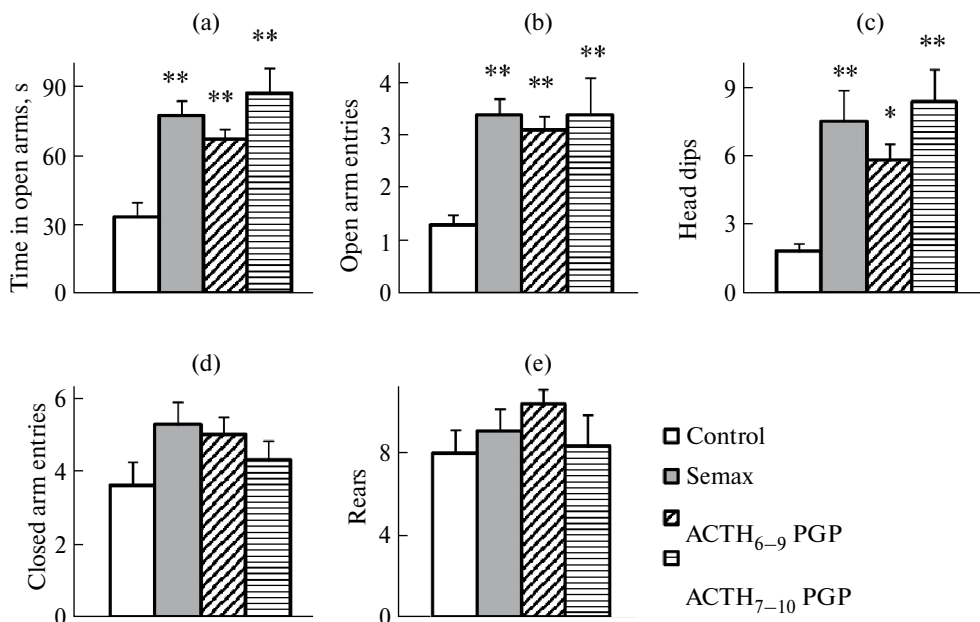
## 2. Влияние семакса, АКТГ<sub>6-9</sub>PGP и АКТГ<sub>7-10</sub>PGP на исследовательское поведение и уровень тревожности животных в различных экспериментальных условиях

Влияние пептидов на уровень тревожности и исследовательское поведение крыс оценивали в тесте ПКЛ. Пептиды вводили и/н за 15 мин до тестирования. Проводили 2 серии экспериментов на разных животных. В первой серии использовалось контрастное освещение, а во второй – однородное неяркое освещение рукавов лабиринта. В каждой серии было 4 группы животных (контрольная группа и три группы с введением пептидов).

При контрастном освещении рукавов (в условиях высокой стрессорной нагрузки) использование однофакторного ANOVA продемонстрировало значимое влияние фактора ПЕПТИД на время, проведенное в открытых рукавах ( $F_{3,36} = 9.76$ ;  $p < 0.001$ ), число заходов в открытые рукава ( $F_{3,36} = 5.76$ ;  $p < 0.003$ ) и число свешиваний с открытых рукавов лабиринта ( $F_{3,36} = 7.25$ ;  $p < 0.001$ ). Дальнейший анализ показал, что введение всех исследованных пептидов приводит к статистически значимому увеличению перечисленных параметров относительно контрольных значений (рис. 2). Отличий между пептидами выявлено не было ( $p > 0.20$ ). Значимого влияния исследуемых препаратов на число стоек и заходов в закрытые рукава лабиринта отмечено не было ( $F_{3,36} < 1.8$ ;  $p > 0.15$ , 1-way ANOVA).

При использовании однородного неяркого освещения лабиринта (в условиях пониженной стрессорной нагрузки) ANOVA показал статистически значимое влияние фактора ПЕПТИД на число стоек ( $F_{3,36} = 6.44$ ;  $p < 0.001$ ) и число заходов в закрытые рукава лабиринта ( $F_{3,36} = 4.33$ ;  $p < 0.01$ ). Дальнейший анализ показал, что введение АКТГ<sub>7-10</sub>PGP приводит к значимому увеличению этих показателей как относительно контрольных значений, так и по сравнению с группами крыс, получавшими инъекции семакса или АКТГ<sub>6-9</sub>PGP (рис. 3).

В группах крыс, которым вводили семакс или АКТГ<sub>6-9</sub>PGP, число стоек и заходов в закрытые рукава лабиринта не отличались от контрольных значений ( $p > 0.17$ ). Значимого влияния фактора ПЕПТИД на время в открытых рукавах, число свешиваний и заходов в открытые рукава в данной модификации теста зарегистрировано не было ( $F_{3,36} < 1.5$ ;  $p > 0.20$ ).



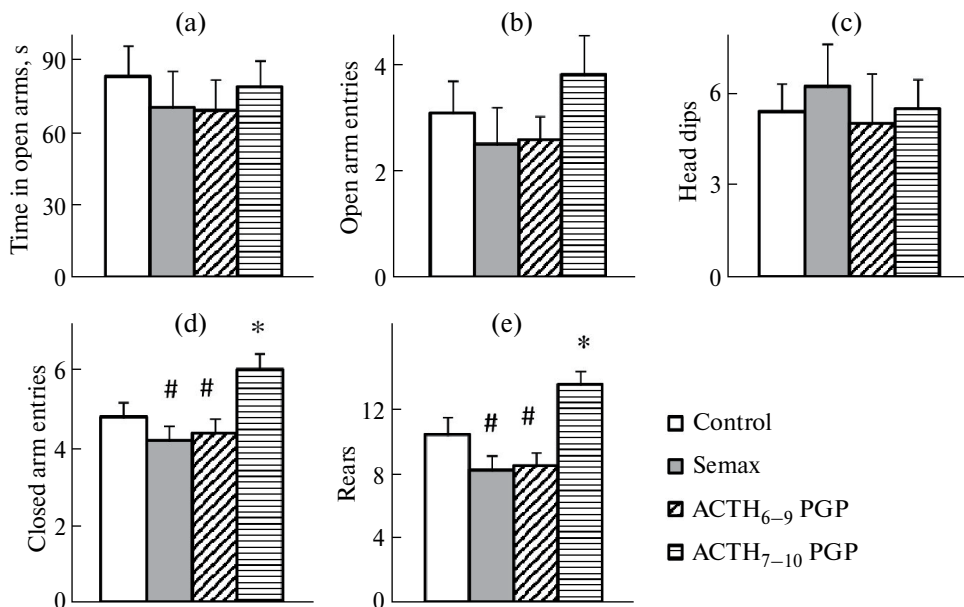
**Рис. 2.** Влияние семакса, АКТГ<sub>6-9</sub>PGP и АКТГ<sub>7-10</sub>PGP на поведение крыс в тесте “Приподнятый крестообразный лабиринт” при контрастном освещении рукавов лабиринта. (а) – время, проведенное в открытых рукавах лабиринта (с); (б) – число заходов в открытые рукава; (с) – число свешиваний; (д) – число заходов в закрытые рукава; (е) – число стоек. Пептиды вводили интраназально в дозе 0.05 мг/кг за 15 мин до тестирования. В каждой группе было по 10 крыс. Данные представлены в виде среднего ± стандартная ошибка среднего. Статистически значимые отличия от контроля отмечены \* ( $p < 0.05$ ) и \*\* ( $p < 0.01$ ).

### 3. Влияние семакса, АКТГ<sub>6-9</sub>PGP и АКТГ<sub>7-10</sub>PGP на болевую чувствительность крыс

Влияние пептидов на болевую чувствительность крыс изучали в тесте “сдавливания задней лапы”. Пептиды вводили в/б в дозе 0.5 мг/кг. Эффекты каждого пептида изучали в отдельном эксперименте. В каждом эксперименте было 2 группы крыс (контрольная группа и группа с введением пептида).

При исследовании эффектов семакса двухфакторный ANOVA выявил статистически значимое влияние фактора ПЕПТИД ( $F_{1,28} = 14.42$ ;  $p < 0.001$ ), а также значимое взаимодействие факторов ПЕПТИД и ВРЕМЯ ( $F_{8,224} = 4.20$ ;  $p < 0.0001$ ) для величины болевого порога. Дальнейший анализ показал статистически значимое увеличение этого показателя в группе крыс, получавших инъекцию семакса, с 15-й по 75-ю мин после введения пептида относительно контрольных значений. Кроме того, с 15-й по 60-ю мин после инъекции величина болевого порога в этой группе крыс статистически значимо превышала фоновые значения. В контрольной группе животных значимых отличий от фоновых значений отмечено не было ( $p > 0.16$ ) (рис. 4).

При изучении эффектов АКТГ<sub>6-9</sub>PGP двухфакторный ANOVA выявил статистически значимое влияние факторов ПЕПТИД ( $F_{1,28} = 14.42$ ;  $p < 0.001$ ) и ВРЕМЯ ( $F_{8,224} = 5.71$ ;  $p < 0.001$ ), а также значимое взаимодействие этих факторов ( $F_{8,224} = 2.70$ ;  $p < 0.01$ ) для величины болевого порога. Post hoc анализ показал статистически значимое увеличение болевого порога в группе крыс, которым вводили АКТГ<sub>6-9</sub>PGP, с 15-й по 45-ю мин после инъекции по сравнению с контролем. Величина этого показателя через 15 и 45 мин после введения пептида статистически значимо превышала исходные



**Рис. 3.** Влияние семакса, АКТГ<sub>6-9</sub>PGP и АКТГ<sub>7-10</sub>PGP на поведение крыс в тесте “Приподнятый крестообразный лабиринт” при однородном слабом освещении рукавов лабиринта. (а) – время, проведенное в открытых рукавах лабиринта – секунды; (б) – число заходов в открытые рукава; (с) – число свешиваний; (д) – число заходов в закрытые рукава; (е) – число стоек. Пептиды вводили интраназально в дозе 0.05 мг/кг за 15 мин до тестирования. В каждой группе было по 10 крыс. Данные представлены в виде среднего ± стандартная ошибка среднего. Статистически значимые отличия от контроля отмечены \* ( $p < 0.05$ ), от группы с введением АКТГ<sub>7-10</sub>PGP – # ( $p < 0.05$ ) и ## ( $p < 0.01$ ).

значения, а через 30 мин увеличение относительно исходных значений было на уровне тенденции ( $p < 0.06$ ). В контрольной группе крыс значимых отличий от фоновых значений отмечено не было ( $p > 0.11$ ) (рис. 4).

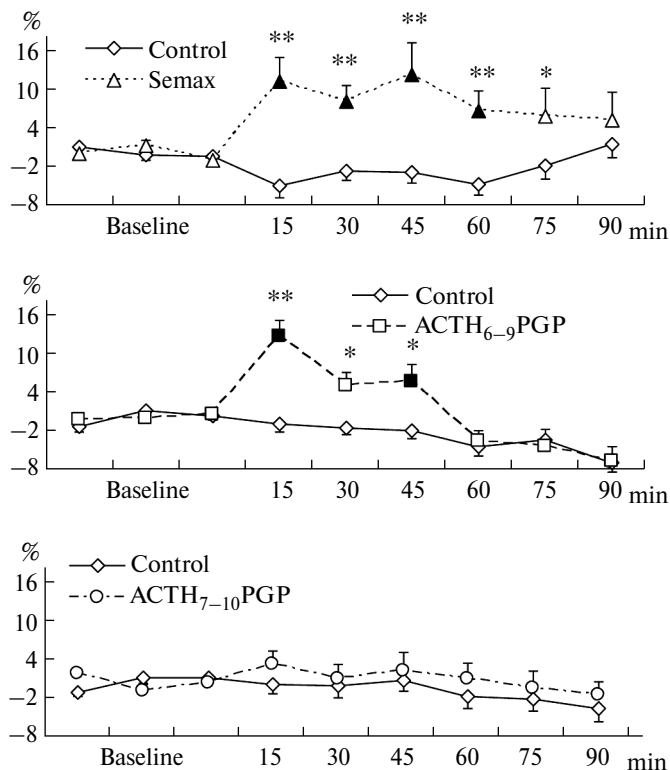
При исследовании влияния АКТГ<sub>7-10</sub>PGP на болевую чувствительность крыс ANOVA не выявил значимого влияния факторов ПЕПТИД и ВРЕМЯ, а также взаимодействия этих факторов для величины болевого порога крыс в тесте “сдавливания задней лапы” ( $F < 1.6$ ;  $p > 0.15$ ) (рис. 4).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

МК обладают широким спектром нейротропных эффектов, в том числе влияют на процессы обучения и памяти, нейропротекцию, эмоциональный статус и болевую чувствительность [2–4]. Участком, ответственным за нейротропную активность МК, является фрагмент АКТГ<sub>4-10</sub> [7]. Результаты структурно-функциональных исследований позволяют предположить, что последовательность этого фрагмента включает в себя несколько различных, возможно, перекрывающихся сайтов, которые способны, воздействуя на рецепторы и активируя разные сигнальные пути, вызывать различные эффекты [4]. Данная работа была посвящена сравнению эффектов пептидов, структура которых включала в себя природный фрагмент АКТГ – АКТГ<sub>4-7</sub>, АКТГ<sub>6-9</sub> или АКТГ<sub>7-10</sub> – и стабилизирующий трипептид PGP.

Ранее нами было показано, что семакс (АКТГ<sub>4-7</sub>PGP) и АКТГ<sub>6-9</sub>PGP при и/н введении улучшают обучение крыс в моделях с положительным (пищевым) и отрицатель-





**Рис. 4.** Влияние семакса, АКГГ<sub>6-9</sub>PGP и АКГГ<sub>7-10</sub>PGP на болевую чувствительность крыс в тесте “сдавливание задней лапы”. Пептиды вводили внутривенно в дозе 0.5 мг/кг. По оси абсцисс – время относительно момента введения препарата (мин); по оси ординат – величина болевого порога в процентах к максимально возможному эффекту. В каждой группе было по 15 крыс. Данные представлены в виде среднего  $\pm$  стандартная ошибка среднего. Статистически значимые отличия от контроля отмечены \* ( $p < 0.05$ ) и \*\* ( $p < 0.01$ ). Статистически значимые отличия от фоновых значений ( $p < 0.05$ ) отмечены закрашенными символами.

ным (болевым) подкреплением [25, 28]. Аналогичное введение АКГГ<sub>7-10</sub>PGP улучшало воспроизведение рефлекса пассивного избегания болевого раздражителя, но негативно влияло на выработку пищедобывательного рефлекса на место [28].

В данной работе для оценки влияния пептидов на поведение крыс нами был использован тест ПКЛ в двух модификациях (в условиях низкой и высокой стрессорной нагрузки), что позволило оценить зависимость эффектов пептидов от условий тестирования. Условия эксперимента (в том числе различия в освещенности установки) определяют базовый уровень исследовательской активности и тревожности и, как следствие, могут влиять на выраженность анксиолитических/анксиогенных эффектов различных препаратов и воздействий [36, 37]. Сравнение поведения контрольных крыс в тесте ПКЛ в различных условиях показало, что возрастание освещенности открытых рукавов приводит к снижению времени, проведенного в открытых рукавах лабиринта, числа свешиваний и заходов в открытые рукава. При этом не изменяются показатели, связанные с исследовательской активностью, – число стоек и заходов в закрытые рукава (рис. 2 и 3). Такие изменения свидетельствуют о возрастании у животных реакции тревоги и страха при изменении уровня освещенности экспериментальной установки [38].

Оценка влияния исследуемых препаратов на эмоциональное состояние животных показала, что семакс и АКТГ<sub>6,9</sub>PGP не влияют на поведение крыс в условиях незначительной стрессорной нагрузки, однако в условиях, провоцирующих реакцию тревоги и страха, оказывают анксиолитическое действие. Введение АКТГ<sub>7-10</sub>PGP также приводило к снижению тревожности животных в стрессогенных условиях. Однако этот пептид, в отличие от семакса и АКТГ<sub>6,9</sub>PGP, стимулировал исследовательскую активность крыс в условиях незначительной стрессорной нагрузки.

Таким образом, исследованные аналоги фрагментов АКТГ в условиях, провоцирующих реакцию тревоги и страха (при обучении с болевым подкреплением или в ситуации яркого контрастного освещения рукавов ПКЛ), оказывают положительное ноотропное и анксиолитическое действие. В условиях незначительной стрессорной нагрузки (при выработке пищедобывательного рефлекса на место в лабиринте или в ситуации неяркого однородного освещения рукавов ПКЛ) пептиды семакс и АКТГ<sub>6,9</sub>PGP улучшают обучение и не влияют на эмоциональное состояние животных. В таких условиях пептид АКТГ<sub>7-10</sub>PGP стимулирует исследовательское поведение, что может приводить к росту ошибочных реакций при обучении в лабиринте.

Известно, что АКТГ-подобные пептиды играют важную роль в процессах восприятия боли. В зависимости от структуры, дозы и способа их введения может наблюдаться как снижение, так и повышение болевой чувствительности [39]. Ранее нами было показано, что фрагмент АКТГ<sub>4-10</sub> и семакс при в/б введении оказывают анальгетическое действие в тесте “сдавливания задней лапы” [11, 34]. В данной работе в/б введение семакса вызывало повышение болевого порога у крыс в этом тесте, что согласуется с полученными ранее данными. Инъекция АКТГ<sub>6,9</sub>PGP также приводила к снижению болевой чувствительности, однако продолжительность эффекта этого пептида была меньше, чем семакса. Пептид АКТГ<sub>7-10</sub>PGP не оказывал влияния на болевую чувствительность крыс. Следовательно, для сохранения анальгетической активности необходимо наличие в структуре пептида последовательности АКТГ<sub>4-7</sub> или АКТГ<sub>6-9</sub>.

Исследование влияния аналогов фрагментов АКТГ на содержание нейротрофических факторов в культуре нейронов показало, что только АКТГ<sub>7-10</sub>PGP в использованной концентрации (0.1 нМ) способен стимулировать уровни BDNF в первичных культурах нейронов гиппокампа и коры больших полушарий мозга крысы. Введение семакса или АКТГ<sub>6,9</sub>PGP в использованной концентрации не влияло на содержание этого нейротрофина в культурах. Все три исследованных пептида оказывали стимулирующее влияние на уровни VEGF в культуре нейронов гиппокампа.

BDNF мозга, в частности, коры больших полушарий, рассматривается как важный участник регуляции исследовательской активности [40, 41]. Полученные нами данные о стимуляции исследовательской активности пептидом АКТГ<sub>7-10</sub>PGP, но не семаксом и АКТГ<sub>6,9</sub>PGP, согласуются со способностью АКТГ<sub>7-10</sub>PGP повышать уровни BDNF. Пептид, в структуре которого присутствует последовательность АКТГ<sub>7-10</sub>, способен оказывать стимулирующее влияние на содержание как BDNF, так и VEGF в культуре нейронов. Пептиды, содержащие последовательности АКТГ<sub>4-7</sub> или АКТГ<sub>6-9</sub>, в использованных условиях эксперимента были менее активны и оказывали влияние только на уровень VEGF в культуре нейронов гиппокампа. В настоящее время показано, что VEGF оказывает нейротропное и нейротрофическое действие, играет важную роль в регуляции когнитивных функций и эмоций [29, 42]. Увеличение экспрессии VEGF приводит к усилению нейрогенеза, улучшает гиппокамп-зависимое обучение и нормализует уровень тревожности и депрессивности [30, 43]. Одним из возможных механизмов нейропротекторных и когнитивных эффектов природных МК и их аналогов может быть регуляция продукции нейротрофических факторов клетками мозга [31].

Таким образом, сравнительное исследование эффектов синтетических МК-аналогов различных фрагментов N-концевой области АКТГ/МСГ позволило выявить как сходство, так и различия их нейротропной активности. Пептиды, в структуре которых

присутствует фрагмент АКТГ<sub>4-7</sub> или АКТГ<sub>6-9</sub>, обладают ноотропной, анксиолитической и анальгетической активностью, а также вызывают повышение уровней VEGF в культуре нейронов гиппокампа. Пептид, содержащий в структуре последовательность АКТГ<sub>7-10</sub>, проявляет анксиолитическую активность, увеличивает исследовательское поведение, не влияет на болевую чувствительность и оказывает стимулирующее влияние на уровни BDNF и VEGF в нейрональных культурах.

Полученные данные свидетельствуют о том, что разные участки N-концевой области молекулы АКТГ ответственны за проявление определенных нейротропных эффектов МК. Результаты исследования могут быть использованы при разработке лекарственных препаратов на основе природных меланокортинов.

#### ВКЛАДЫ АВТОРОВ

Идея работы и планирование экспериментов (Н. Ф. М., И. А. Г., О. В. Д., Н. Г. Л.), сбор данных (Н. Ю. Г., Е. А. С., Д. М. М., Л. А. А.), обработка данных (Н. Ю. Г., Е. А. С., О. В. Д., Н. Г. Л.), написание и редактирование манускрипта (И. А. Г., О. В. Д., Н. Г. Л.).

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета государственных заданий Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова (№ 121032300071-8) и Научно-исследовательского центра “Курчатовский институт”. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Комиссией по биоэтике Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова (протокол 97-ж-3 от 26.12.2022 г. и № 12.4-сод от 16.11.2023 г.).

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Feng W, Zhou Q, Chen X, Dai A, Cai X, Liu X, Zhao F, Chen Y, Ye C, Xu Y, Cong Z, Li H, Lin S, Yang D, Wang MW* (2023) Structural insights into ligand recognition and subtype selectivity of the human melanocortin-3 and melanocortin-5 receptors. *Cell Discov* 9: 81. <https://doi.org/10.1038/s41421-023-00586-4>
2. *Bertolini A, Tacchi R, Vergoni AV* (2009) Brain effects of melanocortins. *Pharmacol Res* 59: 13–47. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2008.10.005>
3. *Akimov MG, Fomina-Ageeva EV, Dudina PV, Andreeva LA, Myasoyedov NF, Bezuglov VV* (2021) ACTH(6–9)PGP peptide protects SH-SY5Y cells from H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tert-butyl Hydroperoxide, and cyanide cytotoxicity via stimulation of proliferation and induction of prosurvival-related genes. *Molecules* 26: 1878. <https://doi.org/10.3390/molecules26071878>
4. *Gebrie A* (2023) The melanocortin receptor signaling system and its role in neuroprotection against neurodegeneration: Therapeutic insights. *Ann N Y Acad Sci* 1527: 30–41. <https://doi.org/10.1111/nyas.15048>
5. *Micioni Di Bonaventura E, Botticelli L, Del Bello F, Giorgioni G, Piergentili A, Quaglia W, Romano A, Gaetani S, Micioni Di Bonaventura MV, Cifani C* (2022) Investigating the role of the central melanocortin system in stress and stress-related disorders. *Pharmacol Res* 185: 106521. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106521>

6. *Markov DD, Dolotov OV, Grivennikov IA* (2023) The Melanocortin System: A Promising Target for the Development of New Antidepressant Drugs. *Int J Mol Sci* 24: 6664.  
<https://doi.org/10.3390/ijms24076664>
7. *Ericson MD, Lensing CJ, Fleming KA, Schlasner KN, Doering SR, Haskell-Luevano C* (2017) Bench-top to clinical therapies: A review of melanocortin ligands from 1954 to 2016 *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1863: 2414–2435.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2017.03.020>
8. *Mowlazadeh Haghghi S, Zhou Y, Dai J, Sawyer JR, Hraby VJ, Cai M* (2018) Replacement of Arg with Nle and modified D-Phe in the core sequence of MSHs, Ac-His-D-Phe-Arg-Trp-NH<sub>2</sub>, leads to hMC1R selectivity and pigmentation. *Eur J Med Chem* 151: 815–823.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.04.021>
9. *Todorovic A, Ericson MD, Palusak RD, Sorensen NB, Wood MS, Xiang Z, Haskell-Luevano C* (2016) Comparative Functional Alanine Positional Scanning of the  $\alpha$ -Melanocyte Stimulating Hormone and NDP-Melanocyte Stimulating Hormone Demonstrates Differential Structure-Activity Relationships at the Mouse Melanocortin Receptors. *ACS Chem Neurosci* 7: 984–994.  
<https://doi.org/10.1021/acchemneuro.6b00098>
10. *Strand FL* (2000) David and Goliath – the slingshot that started the neuropeptide revolution. *Eur J Pharmacol* 405: 3–12.  
[https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(00\)00536-7](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(00)00536-7)
11. *Ivanova DM, Levitskaya NG, Andreeva LA, Kamenskii AA, Myasoedov NF* (2007) Comparative study of analgesic potency of ACTH4-10 fragment and its analog semax. *Bull Exp Biol Med* 143: 5–8.  
<https://doi.org/10.1007/s10517-007-0002-5>
12. *Catania A* (2008) Neuroprotective actions of melanocortins: a therapeutic opportunity. *Trends Neurosci* 31: 353–360.  
<https://doi.org/10.1016/j.tins.2008.04.002>
13. *Wolterink G, van Ree JM* (1989) Behavioral and neurotrophic activity of ACTH-(7-16)NH<sub>2</sub>. *Life Sci* 45: 703–710.  
[https://doi.org/10.1016/0024-3205\(89\)90089-1](https://doi.org/10.1016/0024-3205(89)90089-1)
14. *De Wied D* (1999) Behavioral pharmacology of neuropeptides related to melanocortins and the neurohypophyseal hormones. *Eur J Pharmacol* 375: 1–11.  
[https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(99\)00339-8](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(99)00339-8)
15. *Smith JS, Lefkowitz RJ, Rajagopal S* (2018) Biased signalling: from simple switches to allosteric microprocessors. *Nat Rev Drug Discov* 17: 243–260.  
<https://doi.org/10.1038/nrd.2017.229>
16. *Vyunova TV, Andreeva LA, Shevchenko KV, Glazova NY, Sebentsova EA, Levitskaya NG, Myasoedov NF* (2023) Synthetic corticotropins and the GABA receptor system: Direct and delayed effects. *Chem Biol & Drug Design* 101: 1393–1405.  
<https://doi.org/10.1111/cbdd.14221>
17. *Singh A, Haslach EM, Haskell-Luevano C* (2010) Structure-activity relationships (SAR) of melanocortin and agouti-related (AGRP) peptides. *Adv Exp Med Biol* 681: 1–18.  
[https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6354-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6354-3_1)
18. *Ashmarin IP, Samonina GE, Lyapina LA, Kamenskii AA, Levitskaya NG, Grivennikov IA, Dolotov OV, Andreeva LA, Myasoedov NF* (2005) Natural and hybrid (“chimeric”) stable regulatory glyproline peptides. *Pathophysiology* 11: 179–185.  
<https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2004.10.001>
19. *Kolomin T, Shadrina M, Slominsky P, Limborska S, Myasoedov N* (2013) A new generation of drugs: Synthetic peptides based on natural regulatory peptides. *Neurosci and Med* 4: 223–252.  
<https://doi.org/10.4236/nm.2013.44035>
20. *Levitskaya NG, Glazova NYu, Sebentsova EA, Manchenko DM, Vilensky DA, Andreeva LA, Kamensky AA, Myasoedov NF* (2008) Investigation of the Spectrum of Physiological Activities of the Heptapeptide Semax, an ACTH 4–10 Analogue. *Neurochem J* 2: 95–101.  
<https://doi.org/10.1007/s11710-008-1018-0>
21. *Levitskaya NG, Vilenskii DA, Sebentsova EA, Andreeva LA, Kamensky AA, Myasoedov NF* (2010) Influence of semax on the emotional state of white rats in the norm and against the background of cholecystokinin-tetrapeptide action. *Biol Bull* 37: 186–192.  
<https://doi.org/10.1134/S1062359010020147>
22. *Ivanova DM, Vilenskii DA, Levitskaya NG, Andreeva LA, Alfeeva LYu, Kamenskii AA, Myasoedov NF* (2006) Study of the relationship between analgesic activity and structure of synthetic melanocortin analogs. *Biol Bull* 33: 162–166.  
<https://doi.org/10.1134/S1062359006020105>

23. *Shadrina MI, Dolotov OV, Grivennikov IA, Slominsky PA, Andreeva LA, Inozemtseva LS, Limborska SA, Myasoedov NF* (2001) Rapid induction of neurotrophin mRNAs in rat glial cell cultures by Semax, an adrenocorticotrophic hormone analog. *Neurosci Lett* 308: 115–118. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(01\)01994-2](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)01994-2)
24. *Dolotov OV, Karpenko EA, Inozemtseva LS, Seredenina TS, Levitskaya NG, Rozyczka J, Dubynina EV, Novosadova EV, Andreeva LA, Alfeeva LY, Kamensky AA, Grivennikov IA, Myasoedov NF, Engele J* (2006) Semax, an analog of ACTH(4-10) with cognitive effects, regulates BDNF and trkB expression in the rat hippocampus. *Brain Res* 1117: 54–60. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.07.108>
25. *Левицкая НГ, Глазова НЮ, Себенцова ЕА, Манченко ДМ, Андреева ЛА, Каменский АА, Мясоедов НФ* (2019) Ноотропные и анксиолитические эффекты гептапептида АКТГ6-9Pro-Gly-Pro. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 105: 761–770. [*Levitskaya NG, Glazova NY, Sebensova EA, Manchenko DM, Andreeva LA, Kamensky AA, Myasoedov NF* (2019) Nootropic and anxiolytic effects of heptapeptide ACTH6-9Pro-Gly-Pro. *Russ J Physiol* 105: 761–770. (In Russ)]. <https://doi.org/10.1134/S0869813919060049>
26. *Filippenkov IB, Stavchansky VV, Glazova NY, Sebensova EA, Remizova JA, Valieva LV, Levitskaya NG, Myasoedov NF, Limborska SA, Dergunova LV* (2021) Antistress action of melanocortin derivatives associated with correction of gene expression patterns in the hippocampus of male rats following acute stress. *Int J Mol Sci* 22: 10054. <https://doi.org/10.3390/ijms221810054>
27. *Vorvul AO, Bobyntsev II, Medvedeva OA, Mukhina AY, Svishcheva MV, Azarova IE, Andreeva LA, Myasoedov NF* (2022) ACTH(6-9)-Pro-Gly-Pro ameliorates anxietylike and depressive-like behaviour and gut mucosal microbiota composition in rats under conditions of chronic restraint stress. *Neuropeptides* 93: 102247. <https://doi.org/10.1016/j.npep.2022.102247>
28. *Glazova NYu, Atanov MS, Pyzgareva AV, Andreeva LA, Manchenko DM, Markov DD, Inozemtseva LS, Dolotov OV, Levitskaya NG, Kamensky AA, Grivennikov IA, Myasoedov NF* (2011) Neurotropic Activity of ACTH7–10PGP, an Analog of an ACTH Fragment. *Dokl Biol Sci* 440: 270–274. <https://doi.org/10.1134/S0012496611050140>
29. *Licht T, Goshen I, Avital A, Kreisel T, Zubedat S, Eavri R, Segal M, Yirmiya R, Keshet E* (2011) Reversible modulations of neuronal plasticity by VEGF. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108: 5081–5086. <https://doi.org/10.1073/pnas.1007640108>
30. *De Rossi P, Harde E, Dupuis JP, Martin L, Chounlamountri N, Bardin M, Watrin C, Benetollo C, Pernet-Gallay K, Luhmann HJ, Honnorat J, Malleret G, Groc L, Acker-Palmer A, Salin PA, Meissirel C* (2016) A critical role for VEGF and VEGFR2 in NMDA receptor synaptic function and fear-related behavior. *Mol Psychiatry* 21: 1768–1780. <https://doi.org/10.1038/mp.2015.195>
31. *Dubynina EV, Inozemtseva LS, Markov DD, Yatsenko KA, Dolotov OV, Grivennikov IA* (2009) Alpha-melanocyte-stimulating hormone increases the expression of vascular endothelial growth factor in rat hippocampal astrocytes in vitro. *Neurochem J* 3: 267–271. <https://doi.org/10.1134/S1819712409040059>
32. *Bottenstein JE, Sato GH* (1979) Growth of a rat neuroblastoma cell line in serum-free supplemented medium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 76: 514–517. <https://doi.org/10.1073/pnas.76.1.514>
33. *Pollock GS, Vernon E, Forbes ME, Yan Q, Ma YT, Hsieh T, Robichon R, Frost DO, Johnson JE* (2001) Effects of early visual experience and diurnal rhythms on BDNF mRNA and protein levels in the visual system, hippocampus, and cerebellum. *J Neurosci* 21: 3923–3931. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-11-03923.2001>
34. *Manchenko DM, Glazova NY, Levitskaya N, Andreeva LA, Kamenskii AA, Myasoedov NF* (2012) The Nootropic and Analgesic Effects of Semax Given via Different Routes. *Neurosci Behav Physiol* 42: 264–270. doi:10.1007/s11055-012-9562-6
35. *Pettersen VL, Zapata-Sudo G, Raimundo JM, Trachez MM, Sudo RT* (2009) The synergistic interaction between morphine and maprotiline after intrathecal injection in rats. *Anesth Analg* 109: 1312–1327. <https://doi.org/10.1213/ane.0b013e3181b16ff5>
36. *Pereira LO, da Cunha IC, Neto JM, Paschoalini MA, Faria MS* (2005) The gradient of luminosity between open/enclosed arms, and not the absolute level of Lux, predicts the behaviour of rats in the plus maze. *Behav Brain Res* 159: 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.10.002>

37. *Violle N, Balandras F, Le Roux Y, Desor D, Schroeder H* (2009) Variations in illumination, closed wall transparency and/or extramaze space influence both baseline anxiety and response to diazepam in the rat elevated plus-maze. *Behav Brain Res* 203: 35–42.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.04.015>
38. *Padovan CM, Guimarães FS* (2000) Restraint-induced hypoactivity in an elevated plus-maze. *Braz J Med Biol Res* 33: 79–83.  
<https://doi.org/10.1590/s0100-879x2000000100011>
39. *Walker JM, Berntson GG, Sandman CA, Kastin AG, Akil H* (1981) Induction of Analgesia by Central Administration of ORG 2766, An Analog of ACTH 4-9. *Eur J Pharmacol* 69: 71–79.  
[https://doi.org/10.1016/0014-2999\(81\)90603-8](https://doi.org/10.1016/0014-2999(81)90603-8)
40. *Huber R, Tononi G, Cirelli C* (2007) Exploratory behavior, cortical BDNF expression, and sleep homeostasis. *Sleep* 30: 129–139.  
<https://doi.org/10.1093/sleep/30.2.129>
41. *Zhu SW, Codita A, Bogdanovic N, Hjerling-Leffler J, Ernfors P, Winblad B, Dickins DW, Mohammed AH* (2009) Influence of environmental manipulation on exploratory behaviour in male BDNF knockout mice. *Behav Brain Res* 197: 339–346.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.09.032>
42. *Dayi A, Cetin F, Sisman AR, Aksu I, Tas A, Gönenc S, Uysal N* (2015) The effects of oxytocin on cognitive defect caused by chronic restraint stress applied to adolescent rats and on hippocampal VEGF and BDNF levels. *Med Sci Monit* 21: 69–75.  
<https://doi.org/10.12659/MSM.893159>
43. *Nicoletti JN, Lenzer J, Salerni EA, Shah SK, Elkady A, Khalid S, Quinteros D, Rotella F, Betancourth D, Croll SD* (2010) Vascular endothelial growth factor attenuates status epilepticus-induced behavioral impairments in rats. *Epilepsy Behav* 19: 272–277.  
<https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2010.07.011>

**The Effect of ACTH/MSH N-Terminal Fragment Analogs on the Anxiety Level, Pain Sensitivity and Levels of Neurotrophic Factors BDNF and VEGF in Primary Neuronal Cultures of Rats**

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

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

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

*\*e-mail: nglevitskaya@gmail.com*

ACTH/MSH-like peptides (melanocortins) have a wide range of neurotropic effects, including effects on learning and memory processes, neuroprotection, emotional state and pain sensitivity. Present work is aimed to compare the effects of peptides, the structure of which includes a natural fragment of ACTH and a stabilizing tripeptide PGP. The peptides ACTH<sub>4-7</sub>PGP (Semax), ACTH<sub>6-9</sub>PGP и ACTH<sub>7-10</sub>PGP were used in the work. The effects of these peptides on the exploratory behavior, anxiety level and pain sensitivity of white rats, as well as on the protein levels of the neurotrophic factors BDNF (brain derived neurotrophic factor) and VEGF (vascular endothelial growth factor) in primary neuron cultures were studied. A comparative study of the effects of analogs of different ACTH/MSH fragments revealed both similarities and differences in their neurotropic activity. The peptides structure of which includes a sequence of ACTH<sub>4-7</sub> or ACTH<sub>6-9</sub> have nootropic, anxiolytic and analgesic activity, and also cause an increase in VEGF levels in the culture of hippocampal neurons. The peptide containing the ACTH<sub>7-10</sub> sequence in the structure exhibits anxiolytic activity, increases exploratory behavior, does not affect pain sensitivity and has a stimulating effect on BDNF and VEGF levels in neuronal cultures. The data obtained indicate that different parts of the N-terminal region of the ACTH molecule are responsible for the manifestation of certain neurotropic effects of melanocortins. The results of the study can be used in the development of therapeutics based on natural melanocortins.

*Keywords:* melanocortins, ACTH/MSH fragments, synthetic analogs, anxiety, pain sensitivity, neurotrophic factors, rat