

ИЗУЧЕНИЕ СТРЕСС-ПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ ПЕПТИДА АРНСЗ В ТЕСТЕ «ПРИПОДНЯТЫЙ КРЕСТООБРАЗНЫЙ ЛАБИРИНТ» НА МЫШАХ ICR

В.М. Павлов^{1,2,*}, А.Ю. Федотова^{1,2}

¹ Филиал ФГБУН ГНЦ РФ Институт биоорганической химии
им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пушкино, просп. Науки, 6

² Пушкинский филиал ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет»
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пушкино, просп. Науки, 3

TRPV1, играющий ключевую роль в передаче болевых сигналов, широко распространён в различных тканях и клетках, включая ЦНС. Активация или подавление TRPV1 влияет на нейронную десенсибилизацию, трансмиссию болевых сигналов и регуляцию нейротрансмиттерных систем. Пептид АРНСЗ, как селективный антагонист TRPV1, используется для исследования эффектов блокады этого канала на тревожность и реакцию на стресс у мышей. Результаты работы могут свидетельствовать о влиянии TRPV1 на формирование эмоциональных состояний. Представленное исследование важно для понимания влияния TRPV1 каналов на стресс у мышей ICR и имеет потенциал для дальнейших исследований в области биомедицины и биомоделирования.

Ключевые слова: TRPV1, АРНСЗ, стресс, мыши ICR, *in vivo*

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: данная работа финансировалась за счёт средств бюджета лаборатории биологических испытаний Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН.

Для цитирования: Павлов В.М., Федотова А.Ю. Изучение стресс-протекторных свойств пептида АРНСЗ в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» на мышах ICR. *Биомедицина*. 2024;20(3E):202–205. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-202-205>

Поступила 15.04.2024

Принята после доработки 22.07.2024

Опубликована 01.11.2024

STRESS-PROTECTIVE PROPERTIES OF THE APHC3 PEPTIDE IN AN ELEVATED CROSS-SHAPED MAZE TEST IN ICR MICE

Vladimir M. Pavlov^{1,2,*}, Anastasia Yu. Fedotova^{1,2}

¹ Branch of the Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry
of the Russian Academy of Sciences
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Nauki Ave., 6

² Pushchino Branch of the Russian Biotechnological University
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Nauki Ave., 3

TRPV1, which plays a key role in transmitting pain signals, is widely distributed in various tissues and cells, including the central nervous system. Activation or suppression of TRPV1 influences neuronal desensitization, pain signal transmission, and regulation of neurotransmitter systems. The APHC3 peptide, as a selective antagonist of TRPV1, is used to investigate the effects of blocking this channel in terms of anxiety

and stress response in mice. The results of studies can indicate the influence of TRPV1 on the formation of emotional states. This study is important for understanding the impact of TRPV1 channels on stress in ICR mice, being promising for further research in the field of biomedicine and biomodeling.

Keywords: TRPV1, APHC3, stress, ICR mice, *in vivo*

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Funding: this work was funded from the budget of the Laboratory of Biological Tests of the Branch of the Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences.

For citation: Pavlov V.M., Fedotova A.Yu. Stress-Protective Properties of the APHC3 Peptide in an Elevated Cross-Shaped Maze Test in ICR Mice. *Journal Biomed.* 2024;20(3E):202–205. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-20-3E-202-205>

Submitted 15.04.2024

Revised 22.07.2024

Published 01.11.2024

Введение

TRPV1 (или транзистентный рецепторный потенциал ваниллоидного типа 1) — это нейрональный канал, который играет ключевую роль в передаче болевых сигналов. Он является белковым ионным каналом, который специфично реагирует на различные физические и химические стимулы, включая высокую температуру, низкий pH, а также экзо- и эндогенные регуляторы активности [11]. К эндогенным агонистам относятся производные полиненасыщенных жирных кислот, окситоцин, а к экзогенным — капсаицин. К антагонистам относятся пищевые омега-3 жирные кислоты, полиамины [1].

TRPV1 распространён в различных тканях и клетках, включая нейронные узлы дорсального ганглия, гипоталамуса, гиппокампа, коры мозга и других участков ЦНС. Его активация приводит к десенсибилизации нейронов, изменению трансмиссии болевых сигналов и регуляции нейротрансмиттерных систем [7]. Подавление активности TRPV1 в центральной нервной системе с помощью введения антагониста этого канала в медиальную префронтальную кору приводит к снижению уровня тревоги у крыс [3]. Мыши, у которых отсутствует ген *TRPV1*, проявляют меньше тревожности и реагируют слабее на страх по сравнению с обычными мышами. Это связано

с уменьшением долгосрочной потенциации, что указывает на важное влияние *TRPV1* на формирование чувства страха [5].

В нашем исследовании в качестве исследуемого вещества использовался пептид АРНС3, который является селективным антагонистом TRPV1 канала. Исследования показали, что введение этого пептида оказывает противовоспалительное и обезболивающее действие на моделях ревматоидного и остеоартрита, острой и хронической боли [4, 9, 10]. Пептид АРНС3 был выделен из морской анемоны *Heteractis crispa* [9]. В исследованиях *in vitro* у данного пептида наблюдалась нейропротективная активность на моделях нейродегенерации [8].

Материалы и методы

В исследованиях был использован пептид АРНС3, который был получен путём гетерологической экспрессии в *E. coli* [6].

Исследование проведено на базе Лаборатории биологических испытаний Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. В основе дизайна исследования лежали рекомендации «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [2]. Для проведения исследования было взято 16 самцов белых половозрелых мышей аутбредной линии ICR статуса SPF массой тела 20–30 г, воз-

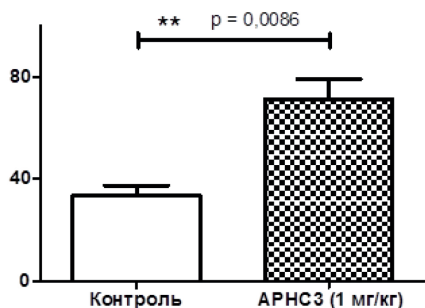


Рис. Результаты теста «Приподнятый крестообразный лабиринт». Время пребывания в открытых зонах. Результаты представлены как среднее значение $\pm$ SD; ** — $p < 0,01$ по сравнению с группой контроля (непараметрический тест Манна — Уитни).

Fig. The results of an elevated cross-shaped maze test. Time spent in open areas. The results are presented as an average value $\pm$ SD; ** — $p < 0,01$ compared with the control group (nonparametric Mann–Whitney test).

раст 7–8 недель (НПП Питомник лабораторных животных ФИБХ РАН, Московская обл.). Животные размещались по 4 особи в поликарбонатные клетки (тип 3, размеры 425×266×155 мм).

Животных разделили на две группы по 8 животных в соответствии с вводимыми препаратами. Животным из группы 1 вводили физ. р-р («Обновление», Россия), а животным из группы 2 — АРНСЗ в дозе 1 мг/кг. Всем группам животных тестируемые препараты вводились внутримышечно в объёме 2 мл/кг.

Функциональный тест проводился через 30 мин после введения веществ.

Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» используется для изучения уровня тревожности у грызунов на основе их инстинктивных предпочтений к тёмным норам, страха перед открытыми пространствами и высотой. В рамках этого теста измеряются количество выходов и время пребывания животных в открытых секциях лабиринта.

Результаты исследований

В тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» наблюдалось естественное стремление животных контрольной группы к нахождению в закрытых лучах и меньшее количество посещений открытых лучей. При анализе воздействия АРНСЗ на взаимодействие животных с открытыми зонами площадки было отмечено повышение данного показателя у опытных животных, которые получали дозу 1 мг/кг АРНСЗ, на 110,5% по сравнению с контрольной группой.

Выводы

В результате исследования было обнаружено, что пептид АРНСЗ, который является селективным ингибитором TRPV1 канала, проявляет анксиолитическую активность при внутримышечном введении в дозе 1 мг/кг. Было обнаружено, что данный пептид снижает уровень тревожности у животных, что важно для дальнейших исследований и поиска эффективных доз.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Гладких И.Н., Синцова О.В., Лейченко Е.В., Козлов С.А. Ионный канал TRPV1: структурные особенности, модуляторы активности, терапевтический потенциал. *Успехи биологической химии*. 2021;61:107–154. [Gladkikh I.N., Sintsova O.V., Leichenko E.V., Kozlov S.A. Ionnyy kanal TRPV1: strukturnye osobennosti, modulyatory aktivnosti, terapevticheskiy potentsial [TRPV1 ion channel: structural features, activity modulators, therapeutic potential]. *Uspekhi biologicheskoy khimii* [Advances in Biological Chemistry]. 2021;61:107–154. (In Russian)].
2. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Под ред. А.Н. Миронова. М.: Гриф и К., 2012. [*Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv* [Guidelines for conducting preclinical studies of medicines]. Ed. by A.N. Mironov. Moscow: Grif i K. Publ. 2012. (In Russian)].
3. Aguiar D.C., Terzian A.L., Guimarães F.S., Moreira F.A. Anxiolytic-like effects induced by blockade of transient receptor potential vanilloid type 1 (TRPV1) channels in the medial prefrontal cortex of rats.

- Psychopharmacology (Berl.)*. 2009;205(2):217–225. DOI: 10.1007/s00213-009-1532-5
4. Andreev Ya.A., Kozlov S.A., Korolkova Y.V., Dyachenko I.A., Bondarenko D.A., Skobtsov D.I., Murashev A.N., Kotova P.D., Rogachevskaja O.A., Kabanova N.V., Kolesnikov S.S., Grishin E.V. Polypeptide modulators of TRPV1 produce analgesia without hyperthermia. *Mar. Drugs*. 2013;11(12):5100–5115. DOI: 10.3390/md11125100.
 5. Brown T.E., Chirila A.M., Schrank B.R., Kauer J.A. Loss of interneuron LTD and attenuated pyramidal cell LTP in Trpv1 and Trpv3 KO mice. *Hippocampus*. 2013;23(8):662–671. DOI: 10.1002/hipo.22125
 6. Esipov R.S., Makarov D.A., Stepanenko V.N., Kostromina M.A., Muravyova T.I., Andreev Y.A., Dyachenko I.A., Kozlov S.A., Grishin E.V. Pilot production of the recombinant peptide toxin of *Heteractis crispata* as a potential analgesic by intein-mediated technology. *Protein Expr. Purif.* 2018;145:71–76. DOI: 10.1016/j.pep.2017.12.011
 7. Ho K.W., Ward N.J., Calkins D.J. TRPV1: A stress response protein in the central nervous system. *Am. J. Neurodegener. Dis.* 2012;1(1):1–14.
 8. Kolesova Y.S., Stroylova Y.Y., Maleeva E.E., Moysenovich A.M., Pozdyshev D.V., Muronetz V.I., Andreev Y.A. Modulation of TRPV1 and TRPA1 channels function by sea anemones' peptides enhances the viability of SH-SY5Y cell model of Parkinson's disease. *Int. J. Mol. Sci.* 2024;25(1):368. DOI: 10.3390/ijms25010368
 9. Kozlov S.A., Andreev I.A., Murashev A.N., Skobtsov D.I., Dyachenko I.A., Grishin E.V. New polypeptide components from the *Heteractis crispata* sea anemone with analgesic activity. *Bioorganic Chemistry*. 2009;35(6):711–719. DOI: 10.1134/S1068162009060065
 10. Logashina Yu.A., Palikova Y.A., Palikov V.A., Kazakov V.A., Smolskaya S.V., Dyachenko I.A., Tarasova N.V., Andreev Y.A. Anti-inflammatory and analgesic effects of TRPV1 polypeptide modulator APHC3 in models of osteo- and rheumatoid arthritis. *Mar. Drugs*. 2021;19(1):39. DOI: 10.3390/md19010039
 11. Martins D., Tavares I., Morgado C. “Hotheaded”: The role of TRPV1 in brain functions. *Neuropharmacology*. 2014;85:151–157. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2014.05.034

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Павлов Владимир Михайлович*, Филиал ФГБУН ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущинский филиал ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет»;
e-mail: v.m.pavlov29@gmail.com

Федотова Анастасия Юрьевна, Филиал ФГБУН ГНЦ РФ Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Пущинский филиал ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет»;
e-mail: anastasiafedotova18@gmail.com

Vladimir M. Pavlov*, Branch of the Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Pushchino Branch of the Russian Biotechnological University;
e-mail: v.m.pavlov29@gmail.com

Anastasia Yu. Fedotova, Branch of the Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Pushchino Branch of the Russian Biotechnological University;
e-mail: anastasiafedotova18@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author