

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи



СТАХАНОВА АННА АНДРЕЕВНА

**ВЛИЯНИЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПОСТНАТАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ АВП И
АС-D-MPRG НА ФОРМИРОВАНИЕ КОГНИТИВНЫХ ПРОЦЕССОВ У
БЕЛЫХ КРЫС**

Специальность – 1.5.5 – Физиология человека и животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2023

Работа выполнена на кафедре физиологии человека и животных биологического факультета Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

**Научный
руководитель**

Воскресенская Ольга Георгиевна – кандидат биологических наук

**Официальные
оппоненты**

Кост Наталия Всеволодовна – доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр психического здоровья», лаборатория патофизиологии, главный научный сотрудник.

Иноземцев Анатолий Николаевич – доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский Государственный университет имени М. В. Ломоносова», биологический факультет, кафедра высшей нервной деятельности; ведущий научный сотрудник.

Константинопольский Марк Александрович – кандидат биологических наук, «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», лаборатория фармакологической регуляции состояний зависимости; старший научный сотрудник.

Защита диссертации состоится «18» декабря 2023 г. в 15:30 часов на заседании диссертационного совета МГУ.015.7 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по адресу: 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, биологический факультет, аудитория «М-1»

E-mail: bellaum@mail.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский просп., д. 27) и на сайте ИАС «ИСТИНА»: <https://istina.msu.ru/dissertations/602307313/>

и на сайте Диссовет 2.0: <https://dissovet.msu.ru/dissertation/015.7/2725>

Автореферат разослан «16» ноября 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук



Б.А. Умарова

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы и степень ее разработанности. Регуляторные пептиды – это активный класс биологических соединений, они уже долгое время привлекают внимание исследователей. Эндогенные регуляторные пептиды интересны тем, что они способны прямо или опосредованно действовать на физиологические процессы, а любые нарушения в пептидной системе регуляции могут вызвать большой спектр патологических реакций в организме. На сегодняшний день пептидные препараты, созданные на основе эндогенных регуляторных пептидов, активно исследуются, поэтому ожидается появление новых лекарственных препаратов и их спектр клинического применения достаточно широк.

Первые препараты пептидных гормонов и их аналогов были созданы на основе традиционного подхода, включающего выделение пептидов из тканей животных, их очистку до индивидуальных соединений, установление первичной структуры и далее их химический синтез или глубокую очистку, с последующим синтезом фармацевтического агента. Современный подход к созданию препаратов пептидных гормонов и их аналогов, основанный на рассмотрении их как лигандов соответствующих клеточных рецепторов, предполагает использование компьютерного моделирования, эффективных методов синтеза, высокопроизводительного скрининга, что дает возможность создания более активных, чем природные аналоги, соединений, устойчивых к биodeградации, с заданным спектром активности, выходящим за рамки гормональной регуляции.

В механизмах формирования памяти, как и множестве прочих процессов, принимает участие и система регуляторных пептидов. Среди множества пептидов, которые могут влиять на процессы обучения, оказались такой хорошо известный гормон нейрогипофиза, как аргинин-вазопрессин (АВП), и его фрагменты. АВП продемонстрировал выраженное положительное влияние на выработку условных реакций, которые являются показателями памяти. Будучи введенным в чрезвычайно низких дозах (1 мкг/кг массы тела) он ускоряет выработку и замедляет угашение приобретенных навыков, устраняет ретроградную амнезию, улучшает воспроизведение хранящейся в памяти информации.

Ранее было показано, что аналогичное стимулирующее влияние оказывают такие аналоги АВП, как АВП(4-8), АВП(4-9), АВП(5-9), АВП(6-9) и их аналоги. Подтверждено, что у определенных фрагментов и искусственно созданных аналогов природных пептидов часто обнаруживают более интенсивное влияние, чем у соединений, определенных в организме. Значимое увеличение эффективности выявляется при смене одних аминокислотных остатков на их D-изомеры, что позволяет пептидной молекуле стать менее восприимчивой к

метаболической деградации и содействует достижению пептидом клеток-мишеней в небольших концентрациях, усиливая его нейротропное действие. Учитывая данное предположение, на основании конформационного анализа, проведенного в лаборатории прикладной биохимии Института органической химии НАН Беларуси, был синтезирован тетрапептид $\text{Ac-D-Met}^6\text{-Pro}^7\text{-Arg}^8\text{-Gly}^9\text{-NH}_2$ (Ac-D-MPRG).

Ранее в нашей лаборатории были получены данные, обобщая которые можно заключить, что активность тетрапептида Ac-D-MPRG подобна активности пептидов из семейства ABП. В то же время, данный исследованный пептид оказался гораздо более эффективным при обучении животных, чем сам гормон (эффективная доза – 0,01 мкг/кг). Благодаря высокой активности Ac-D-MPRG при использовании интраназального метода введения, этот препарат может быть рассмотрен как перспективное средство с потенциалом для будущего клинического использования.

Однако клиническое применение препарата невозможно без исследования последствий его хронического введения и изучения его отставленных эффектов.

Целью данной работы было исследование отставленных физиологических эффектов на поведение при хроническом интраназальном способе введения ABП и Ac-D-MPRG в раннем постнатальном периоде развития крыс.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

- 1) Изучить влияние хронического введения ABП и Ac-D-MPRG в раннем постнатальном периоде развития крыс (с 3-го по 7-ой дни жизни) на уровень ориентировочно-исследовательской реакции и тревожности, степень депрессивности, а также на обучение с положительным и отрицательным подкреплением у животных в возрасте 35 – 39 дней (препубертатный период);
- 2) Изучить влияние хронического введения ABП и Ac-D-MPRG в раннем постнатальном периоде развития на уровень ориентировочно-исследовательской реакции и тревожности, степень депрессивности, а также на обучение с положительным и отрицательным подкреплением у животных в возрасте 49 – 53 дней (пубертатный период);
- 3) Изучить влияние хронического введения ABП и Ac-D-MPRG в раннем постнатальном периоде развития на уровень ориентировочно-исследовательской реакции и тревожности, степень депрессивности, а также на обучение с положительным и отрицательным подкреплением у животных в возрасте 63 – 67 дней (взрослые половозрелые животные);

- 4) Изучить влияние хронического введения АВП и Ас-D-MPRG в раннем постнатальном периоде развития на социальное поведение крыс в возрасте 22–32 дней (препубертатный период);
- 5) Изучить влияние хронического введения Ас-D-MPRG (с 14-го по 21-ый день жизни) в постнатальном периоде развития на социальное поведение, уровень тревожности, степень депрессивности и на обучение с отрицательным подкреплением белых крыс в постнатальной вальпроатной модели расстройства аутистического спектра (РАС) в возрасте с 26-46 дни (препубертатный период).

Научная новизна исследования. Впервые показаны эффекты хронического интраназального введения АВП и Ас-D-MPRG в раннем постнатальном периоде (с 3-го по 7-ой дни жизни крыс) на изменение ориентировочно-исследовательского поведения, эмоционального состояния, уровня тревожности, депрессивно-подобного поведения и скорость выработки навыка с положительным и отрицательным подкреплением у крыс в препубертатный и пубертатный периоды жизни и у взрослых половозрелых животных. В работе впервые исследовано влияние хронического интраназального введения данных препаратов на социальное поведение животных. Впервые продемонстрирована возможность коррекции негативного влияния вальпроевой кислоты в постнатальной модели РАС.

Теоретическая и практическая значимость работы. Данная работа вносит существенный вклад в решение вопроса о анксиолитическом, антидепрессантном и ноотропном действии аналогов фрагментов АВП, не обладающих гормональным эффектом. Показано, что исследованный пептид при хроническом интраназальном введении эффективен в дозах, сравнимых с таковыми при внутримозговом введении. Полученные результаты свидетельствуют о том, что эффекты хронического интраназального введения пептидов в постнатальном периоде сохраняются в течение длительного (до двух месяцев) времени. Имеющиеся результаты позволяют предположить, что на основе тетрапептида Ас-D-MPRG возможно создание лекарственных препаратов ноотропного, антидепрессантного действия, а также препаратов, способных купировать проявления расстройств аутистического спектра.

Методология и методы исследования. Диссертационное исследование проведено с соблюдением биоэтических норм обращения с экспериментальными животными в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского Парламента. Условия содержания животных и использованные экспериментальные процедуры были одобрены Комиссией по биоэтике МГУ (рег. №12.3 от 17.11.2022 г.). Для исследования параметров ориентировочно-исследовательской реакции, эмоционального состояния, социального поведения, уровня тревожности, депрессивно-подобного поведения, способности к обучению

животных использованы стандартные методы: «Открытое поле», «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Светло-темная камера», «Принудительное плавание», «Социальное поведение» и обучения с положительным «Сложный пищевой лабиринт» и отрицательным «Условная реакция активного избегания» подкреплением.

Положения, выносимые на защиту:

- В препубертатном периоде хроническое введение **AVP** и **Ac-D-MPRG** с 3 по 7 дни жизни приводит к небольшому снижению ориентировочно-исследовательской реакции (ОИР) только у самок; снижению уровня тревожности и депрессивно-подобного поведения и ускорению выработки реакции с отрицательным подкреплением у самок и самцов крыс.
- В пубертатном периоде хроническое введение **AVP** и **Ac-D-MPRG** с 3 по 7 дни жизни приводит к небольшому увеличению ОИР, снижению уровня тревожности и депрессивно-подобного поведения и ускорению выработки реакции с отрицательным подкреплением как у самок, так и у самцов;
- У взрослых половозрелых крыс хроническое введение **AVP** и **Ac-D-MPRG** с 3 по 7 дни жизни приводит к увеличению ОИР, снижению уровня тревожности и депрессивно-подобного поведения и ускорению выработки реакции с отрицательным подкреплением;
- Хроническое введения **AVP** и **Ac-D-MPRG** с 3 по 7 дни жизни не влияет на выработку навыка с положительным подкреплением ни в одной из исследованных доз во всех трех возрастных периодах;
- При исследовании социального поведения только в модификации «сибс/не сибс» хроническое введения **Ac-D-MPRG** с 3 по 7 дни жизни усиливало стремление к социальной новизне у самцов крыс только в препубертатном периоде.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 20 научных работ из них 3 статьи в журналах, индексируемых аналитическими базами Web of Science, Scopus или RSCI, и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ.015.7 по специальности 1.5.5 - физиология человека и животных.

Апробация материалов диссертации. Результаты диссертационного исследования были представлены на 29th, 34th ECNP Congress (2016 Вена, 2021 Лиссабон); М XXIII и XXIV съезде Физиологического общества имени И.П. Павлова (2017 Воронеж, 2023 Санкт-Петербург); Международной конференции «Научно-методические проблемы нормальной физиологии и медицинской физики» (2017 Москва); V съезде фармакологов России "Научные основы поиска и создания новых лекарств" (2018 Ярославль); VI и VII international conference «Chemistry, structure and function of biomolecules» 2018, 2021 Минск); Международной

научно-практической конференции «Белорусские лекарства» (2016, 2019, Минск), VIII Российском симпозиуме «Белки и пептиды» (2017 Москва); I Национальном конгрессе по когнитивным исследованиям, искусственному интеллекту и нейроинформатике (2020 Москва); VII Съезде физиологов СНГ (2021 Сочи); LXXV-LXXVI Международной научно-практической конференции «Химия, физика, биология, математика: теоретические и прикладные исследования» (2023, Москва).

Личный вклад автора. Автор внесла личный вклад во все этапы проведения исследования и оформления работы. Стаханова А.А. принимала участие в планировании экспериментов, проведении всех исследований, статистической обработке данных, написании статей и тезисов докладов. Результаты исследований были представлены автором на российских и международных конференциях. Объем публикаций по теме диссертации составляет – 2.08 п.л., вклад автора – 1.2 п.л.

Степень достоверности результатов исследований. При выполнении диссертационного исследования использованы адекватные физиологические методы. Достоверность представленных данных подтверждается достаточной величиной выборок животных и использованием адекватных методов статистической обработки. При написании обзора литературы и обсуждении результатов использована современная литература по теме исследования.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 175 страницах, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов и обсуждения полученных данных, заключения и выводов. Список литературы включает 250 источников. Работа проиллюстрирована 2 таблицами и 50 рисунками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования. Работа выполнялась на самцах и самках белых нелинейных крыс. Всех крыс содержали в обычных условиях вивария. У всех крыс был свободный доступ к воде и корму. С помощью искусственного освещения в помещении соблюдался 12-ти часовой световой день (9-21 часов дня). Эксперименты на крысах проводились только с 10 до 20 часов. В исследовательской работе было задействовано 1812 крыс, которые родились в 177 выводках. Выводки, которые шли в работу, содержали от 8 до 12 животных.

Используемые препараты. В эксперименте использовали АВП в дозах 1 и 10 мкг/кг, произведенный фирмой «Сигма», и структурный аналог С-концевого фрагмента аналога АВП(6-9) – тетрапептид N-Ас-D-Met-Pro-Arg-Gly-NH₂ в дозах 0,01; 1 и 10 мкг/кг, который был синтезирован в Институте биоорганической химии НАН Беларуси. Контрольные животные

получали эквивалентный объем дистиллированной воды. Все исследуемые выводки делили надвое: опытную и контрольную группы. Крысам опытной группы интраназально вводили вещества с 3-их по 7-ые сутки жизни в объеме инъекции 1 мкл/10 г массы крысенка.

Исследования, таких параметров, как ориентировочно-исследовательской реакции (ОИР), уровень тревожности, степень депрессивности, а также обучение с положительным и отрицательным подкреплением проводились на животных 3-х возрастных групп: препубертатный период (35-39 дни жизни); пубертатный период (49-53 дни жизни); взрослые половозрелые животные (63-69 дни жизни).

Для оценки параметров поведения и способности к обучению животных использовали тесты: «Открытое поле» в бесстрессорной и стрессогенной модификациях, «Приподнятый крестообразный лабиринт», «Светло-темная камера», выработка пищедобывательного рефлекса на место в «сложном пищевом лабиринте», выработка условной реакции активного избегания «УРАИ», «Принудительное плавание», «Социальное поведение» в двух модификациях: «мама/чужак» и «сибс/не сибс».

Тест «Открытое поле» – экспериментальная установка представляет собой круглую арену (для крыс – диаметр 97 см, высота стенок 42 см. Животное помещали в центр арены и регистрировали следующие показатели: длину пробега, число стоек и выходов в центр поля.

Тест «Сложный пищевой лабиринт» – лабиринт представляет собой камеру размером 60×60×25 см, разделенную пятью прозрачными перегородками с отверстиями на 6 коридоров. Обучение проводили в течение 4-х дней по 5 предъявлений ежедневно. Регистрировали количество совершенных ошибок и процент выполненных реакций.

Тест «Приподнятый крестообразный лабиринт» длина каждого рукава - 44 см; высота стенок – 22 см. Два рукава друг напротив друга затемнены и закрыты по бокам стенками, два оставшихся – освещаются лампами и открыты. На светлых отсеках есть два равных по размеру участка. Лабиринт стоит на высоте 80 см от пола.

Тест «Светло-темная камера» камера прямоугольной формы 32×30×22 см. Камера разделена пополам один отсек освещен ярким направленным светом, второй- затемнен.

Тест «УРАИ» проводили в установке прямоугольной формы 23×32×36 см, в которой на высоте 20 см находится угловая небольшая полка и решетчатый пол. На этот пол подается ток из стимулятора ЭСЛ-1. Каждое животное получало по 10 сочетаний условного и безусловного раздражителей в течение 4 дней обучения. Через неделю после последнего сеанса обучения животных тестировали для проверки сохранения выработанной реакции (ВР).

Тест «Принудительное плавание» оценивали выраженность депрессивных составляющих поведения в цилиндре объемом 30л, высота водяного столба 30 см, температура вод 27-28⁰С, основанного на классической методике Порсолта (Porsolt et al., 1978) в более поздней

модификации Щетинина с соавторами (Щетинин и др., 1989), применившими биоритмологический подход к анализу плавательного поведения крыс.

Тест «Социальное поведение» — это тест, который проводили в установке Т-образного лабиринта, у которого самые дальние отсеки правого (П) и левого (Л) рукавов, отделены решетчатыми перегородками. Лабиринт состоял из квадратов: 6 в основной части и 2 в стартовом отсеке, каждый квадрат имеет размер 14х14 см, высота стенок равна 30 см. Исследование проходило при красном свете лампы. Перед началом тестирования в боковые части, за решеткой, помещали крыс, которые становились объектами социального взаимодействия. Крысенка сажали в стартовый отсек лабиринта, и отделяли его перегородкой на 60 с – период адаптации. После перегородку убирали, затем проходило тестирование в течение 5 минут.

Постнатальная вальпроатная модель РАС

Для моделирования аутистической симптоматики использовалась постнатальная вальпроатная модель РАС. В эксперименте участвовало параллельно два выводка. Потомство каждого выводка было разделено на две группы. В первом выводке половине детенышей проводили в/б введение дистиллированной воды или вальпроевую кислоту (ВПК) в объеме 10 мкл на 10 г веса в дозе 150 мг/кг с 6 по 12 дни и и/н введение дистиллированной воды или Ас-D-MPRG в дозах 0,01; 1 и 10 мкг/кг с 14 по 21 дни жизни. В каждой серии было сформировано 4 экспериментальные группы: «КОНТРОЛЬ» - получали в/б и и/н дистиллированную воду; «ВПК» - получали в/б вальпроат натрия и и/н дистиллированную воду; «Ас-D-MPRG» - получали в/б дистиллированную воду и и/н Ас-D-MPRG; «ВПК + Ас-D-MPRG» - получали в/б вальпроат натрия и и/н Ас-D-MPRG. Поведение животных данных групп исследовали в следующих тестах: «социальное поведение» – (24 и 29 дни жизни); тест «принудительное плавание» (39 день жизни); тест «светлая-темная камера» (42 день жизни); тест «УРАИ» (43-46 дни жизни).

Статистическая обработка данных. Обработку результатов тестирования проводили с помощью стандартных методы статистического анализа. Первым этапом анализа была проверка данных на нормальность распределения с помощью критерия Шопиро-Уилка. Далее нормально распределённые данные сравнивали с использованием параметрического критерия (t-test Стьюдента), а в свою очередь распределения, отличные от нормального, анализировали непараметрическим критерием Манна-Уитни. Множественные сравнения осуществляли критерием one-way ANOVA (с поправкой Данна). Обработку массива данных производили с помощью статистических программ "Statistica 10.0", Microsoft Excel, «GraphPadPrism 8,0». На рисунках представлены данные в виде медианы и доверительного интервала медианы, так же

минимум и максимум; (Mediana (lower – Upper quartiles). Различия между группами считали достоверными при вероятности ошибки $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Глава 1. Влияние хронического введения АВП и Ас-D-MPRG в раннем постнатальном периоде развития на уровень тревожности и ориентировочно-исследовательское поведение животных.

Тревожность животных оценивали в тестах «ПКЛ» и «Светло-темная камера». В тесте «ПКЛ» различия между особями контрольных и опытных групп не наблюдалось.

В тесте «Светло-темная камера» в препубертатном периоде наиболее эффективной оказалась доза Ас-D-MPRG 1 мкг/кг: время, проведенное на свету, увеличивалось как у самок, так и у самцов (Рис. 1А). В свою очередь доза тетрапептида 0,01 мкг/кг повлияла лишь на самок (Рис. 1Б).

Введение Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг не изменило время на свету у опытных животных. Введение АВП в дозах 1 и 10 мкг/кг не привело к значимым различиям в уровне тревожности крыс

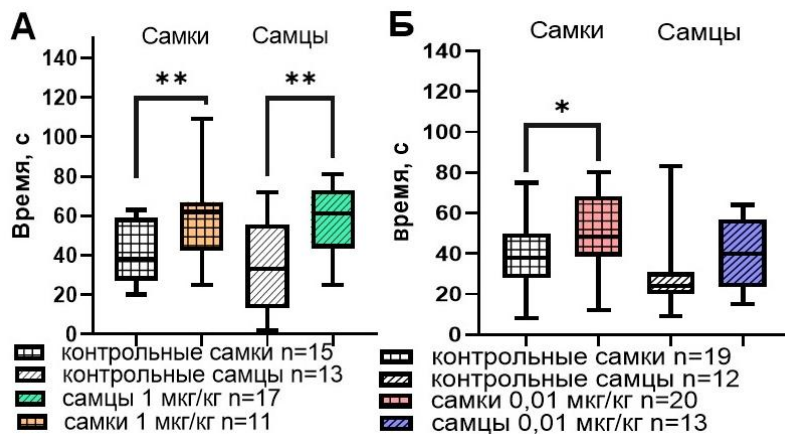


Рис. 1. Влияние хронического введения Ас-D-MPRG в раннем постнатальном периоде на время, проведенное на свету у самок и самцов в тесте «Светло-темная камера» 35 день жизни.
А- Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг
Б - Ас-D-MPRG в дозе 0,01 мкг/кг
Значимые отличия от контроля отмечены *, ($p < 0,05$); **, ($p < 0,01$)

В пубертатном периоде после введения Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг самки опытной группы, по сравнению с самками контрольной группы, значимо больше времени проводили в светлом отсеке камеры (медиана 44,0 (22,0-60,0); медиана 57,0 (40,0-70,0), $p = 0,044$ соответственно контрольной и опытной группам). В группе самцов значимых различий не наблюдалось.

У взрослых животных после введения Ас-D-MPRG и АВП в раннем постнатальном периоде во всех исследуемых дозах значимых отличий в поведении самок и самцов контрольных и опытных групп не наблюдалось.

Полученные данные свидетельствуют о том, что раннее постнатальное введение Ас-D-MPRG в дозах 0,01 и 1 мкг/кг снижает уровень тревожности и эмоциональности животных в тесте «Светло-темная камера» начиная с препубертатного возраста и уменьшается по мере взросления.

ОИР оценивали в тесте «Открытое поле». В бесстрессорной модификации теста между крысами контрольной и опытной группы значимых отличий не было выявлено.

В стрессогенной модификации данного теста в препубертатном периоде после введения Ас-D-MPRG в дозе 0.01 мкг/кг наблюдалось значимое уменьшение горизонтальной двигательной активности (ГДА) у опытных самок по сравнению с контрольными самками (Рис. 2А). Введение Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг в раннем постнатальном периоде аналогично приводило к значимому уменьшению пробега у самок опытной группы (Рис.2Б): у них проявляется реакция застывания. У самцов опытной группы по сравнению с контрольной различий не выявлено. В пубертатном периоде развития только введение Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг значимо увеличило количество стоек у самок опытной группы по сравнению с самками контрольной (Рис. 2В). Введение АВП в дозе 1 мкг/кг приводило к значимому увеличению пробега за первые 60 с в опытной группе самцов по сравнению с контрольными самцами (медиана 7,0 (4,0-9,0) и медиана 5,0 (3,0-11,0) $p=0,032$ соответственно контрольной и опытной группам). Введение АВП в дозе 10 мкг/кг не оказывало влияния на поведение как самцов, так и самок. У взрослых животных введение Ас-D-MPRG в дозе 0,01 мкг/кг приводило к значимому увеличению ГДА на 2-й мин тестирования (медиана 8,0 (4,0-9,0) и медиана 10,0 (8,0-12,0) $p=0,009$). У самцов опытной группы наблюдалось только снижение латентного периода (медиана 3,0 (2,0-10,0) и медиана 3,0 (2,0-4,0) $p=0,033$).

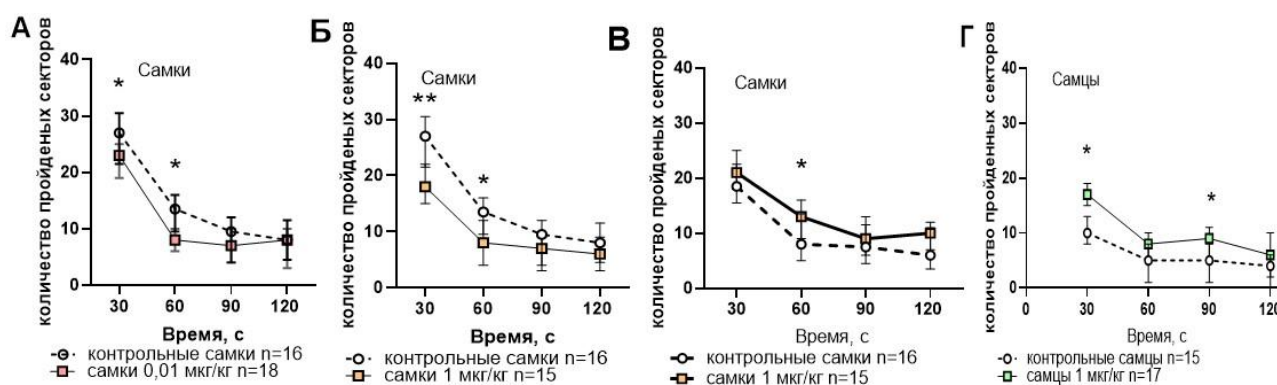


Рис. 2. Влияние хронического введения Ас-D-MPRG в раннем постнатальном периоде на ГДА в тесте «Открытое поле». А – препубертатный период Ас-D-MPRG в дозе 0,01 мкг/кг; Б - препубертатный период Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг; В - пубертатный период Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг; Г – взрослые животные Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг. Значимые отличия от контроля отмечены) *($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$).

Введение Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг приводило к достоверному увеличению ГДА у самцов опытной группы (Рис. 2Г). АВП не приводит к значимым изменениям в ОИР не в одном

исследуемом возрасте. Тетрапептид усиливает природную реакцию на стресс в препубертатном периоде – реакция затаивания, в пубертатном возрасте и у взрослых животных – реакция избегания.

Глава 2. Влияние хронического введения АВП и Ас-D-MPRG в раннем постнатальном периоде развития на обучение с отрицательным и положительным подкреплением.

При выработке навыка с положительным подкреплением (в тесте СПЛ) после введения Ас-D-MPRG в дозах 0,01, 1 и 10 мкг/кг и АВП в дозах 1 и 10 мкг/кг во всех исследуемых возрастах значимых различий в поведении самцов и самок не наблюдалось.

В препубертатном периоде при выработке УРАИ после введения Ас-D-MPRG в дозе 0.01 мкг/кг наблюдалось значимое увеличение количества выполненных реакций (ВР) в опытной группе самок на 4-й день обучения (Рис. 3А). При введении тетрапептида в дозах 0,01 и 1 мкг/кг значимое увеличение количества ВР в день проверки сохранения навыка (Рис. 3А и 3Б). В опытной группе самцов наблюдалось увеличение количества ВР, начиная с 4-го дня обучения. Выполненный навык сохранялся (Рис. 3В). При выработке УРАИ после введения АВП в дозе 10 мкг/кг наблюдалось значимое увеличение количества ВР в опытной группе самок, по сравнению с контрольной группой, начиная с 4-ого дня обучения (медиана 7,5 (3,0-8,0) и медиана 7,0 (6,0-9,0) $p=0,024$). В опытной группе самцов значимых различий не выявлено. При выработке УРАИ после введения АВП в дозе 1 мкг/кг не наблюдалось различий между опытными и контрольными самками. У самцов опытной группы количество ВР значимо больше, чем у самцов контрольной группы, начиная со 2-го дня обучения (медиана 2,0 (0,0-3,0) и медиана 6,0 (4,0-7,) $p=0,022$).

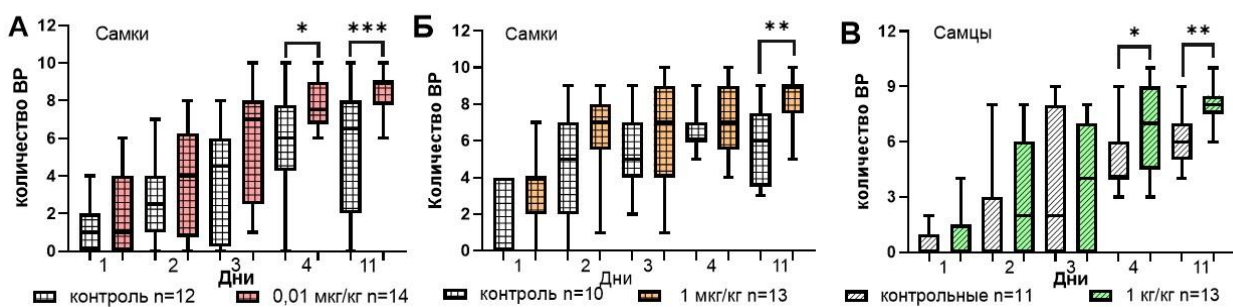


Рис. 3. Влияние хронического введения Ас-D-MPRG в раннем постнатальном периоде на выработку навыка в тесте «УРАИ» в препубертатном периоде. А – Ас-D-MPRG в дозе 0,01 мкг/кг у самок; Б - Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг у самок; В - Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг у самцов. Значимые отличия от контроля отмечены) * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$).

В пубертатном периоде при выработке УРАИ после введения Ас-D-MPRG в дозе 0,01 мкг/кг наблюдалось значимое увеличение количества ВР в опытной группе самок, по сравнению с контрольной, начиная с 3-ого дня обучения (медиана 6,0 (4,0-7,0) и медиана 7,5 (6,0-9,0) $p=0,028$). В опытной группе самцов наблюдалось увеличение количества ВР (Рис.

4А). После введения Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг при выработке навыка у самок опытной группы количество ВР больше (Рис. 4Б), также, как и у самцов (Рис. 4В). После введения Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг при выработке навыка у самцов наблюдалось увеличение количества ВР, начиная со 1-го дня обучения (Рис. 4Г).

После введения АВП в дозе 10 мкг/кг при выработке навыка у самок опытной и контрольной групп различий не наблюдалось. У самцов опытной группы количество ВР было значимо больше, чем у самцов контрольной группы, только на 4-й день обучения (медиана 5,5 (3,0-7,0) и медиана 8,0 (7,0-8,0) $p=0,028$).

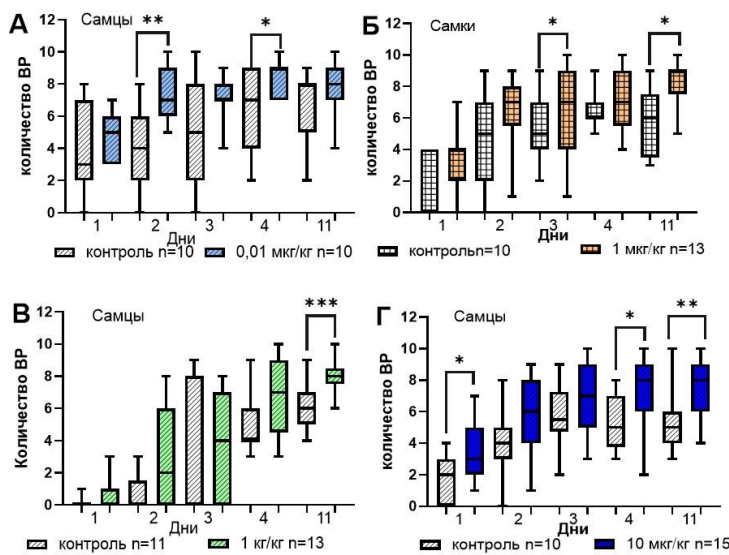


Рис. 4. Влияние хронического введения Ас-D-MPRG в раннем постнатальном периоде на выработку навыка в тесте «УРАИ» в пубертатном периоде. А – Ас-D-MPRG в дозе 0,01 мкг/кг у самцов; Б - Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг у самок; В - Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг у самцов; Г- Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг у самцов. Значимые отличия от контроля отмечены) * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$).

У взрослых половозрелых животных после введения Ас-D-MPRG в дозе 0,01 мкг/кг в раннем постнатальном периоде не наблюдалось значимых различий между опытной и контрольной группой самок. У самцов опытной группы значимое увеличение количества ВР наблюдалось, начиная с 3-го дня обучения. Выработанный навык сохранялся (Рис. 5А). После введение тетрапептида в дозе 1 мкг/кг при выработке навыка УРАИ у самок опытной группы наблюдалось значимое увеличение количества ВР, начиная со 2-го дня обучения (Рис. 5Б). В группе самцов количество ВР отличалось только в день проверки сохранения навыка (Рис. 5В). После введения АВП в дозе 1 мкг/кг у самок опытной группы, по сравнению с контрольной, не выявлено различий. У самцов опытной группы количество ВР значимо больше, начиная с 1-го дня обучения (Рис. 5Г).

Полученные нами результаты позволяют сделать заключение о том, что раннее постнатальное введение Ас-D-MPRG во всех трех дозах и АВП в дозе 1 и 10 мкг/кг улучшает выработку реакции с отрицательным подкреплением у взрослых животных. Следует отметить, что введение Ас-D-MPRG в раннем постнатальном периоде животным данного возраста по-разному влияет на поведение самцов и самок в зависимости от вводимой дозы.

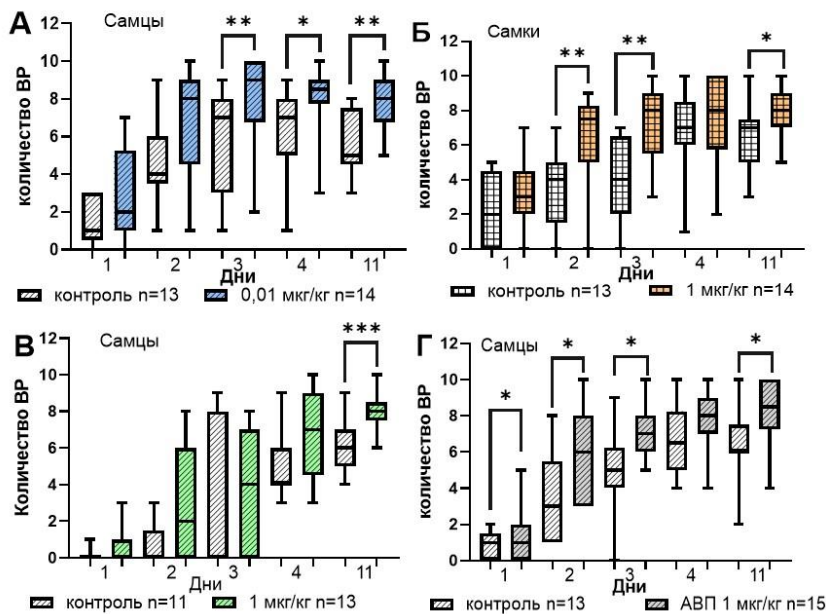


Рис. 5. Влияние хронического введения Ас-D-MPRG в раннем постнатальном периоде на выработку навыка в тесте «УРАИ» во взрослом возрасте. А – Ас-D-MPRG в дозе 0,01 мкг/кг у самцов; Б – Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг у самок; В – Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг у самцов; Г – АВП в дозе 1 мкг/кг у самцов. Значимые отличия от контроля отмечены) * ($p < 0.05$), ** ($p < 0.01$), *** ($p < 0.001$).

Глава 3. Влияние хронического введения АВП и Ас-D-MPRG в раннем постнатальном периоде введения на депрессивно-подобное поведение животных

Депрессивно-подобное поведение оценивали в тесте «Принудительное плавание». В препубертатном периоде после введения Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг у самок опытной группы, по сравнению с самками контрольной группы иммобилизация длится меньше (Рис. 6А). У самцов опытной группы 1-й акт иммобилизации наступает позднее, чем у самцов контрольной группы и длится меньше (Рис. 6Б). Подобные результаты наблюдали при использовании доз 0,01 и 10 мкг/кг. АВП в свою очередь оказывает влияние в основном на самцов.

В пубертатном периоде после введения Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг у самок опытной группы, по сравнению с самками контрольной группы, длительность первого акта активного плавания (медиана 0,0 (0,0-5,0), медиана 0,0 (0,0-0,0); $p=0,045$ соответственно контрольной и опытной группам), суммарное время иммобилизации значимо меньше (Рис. 6В), а начало первого акта иммобилизации начинается позднее и у самок и у самцов (Рис. 6В,Г).

У взрослых половозрелых животных после введения Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг у самок опытной группы, по сравнению с контрольной, 1-й акт иммобилизации наступает позднее и длится меньше (Рис. 6Д).

Таким образом введение тетрапептида снижает депрессивно-подобное поведение начиная с 1 возраста как у самок, так и у самцов. АВП наиболее активен у самцов всех трех возрастных групп.

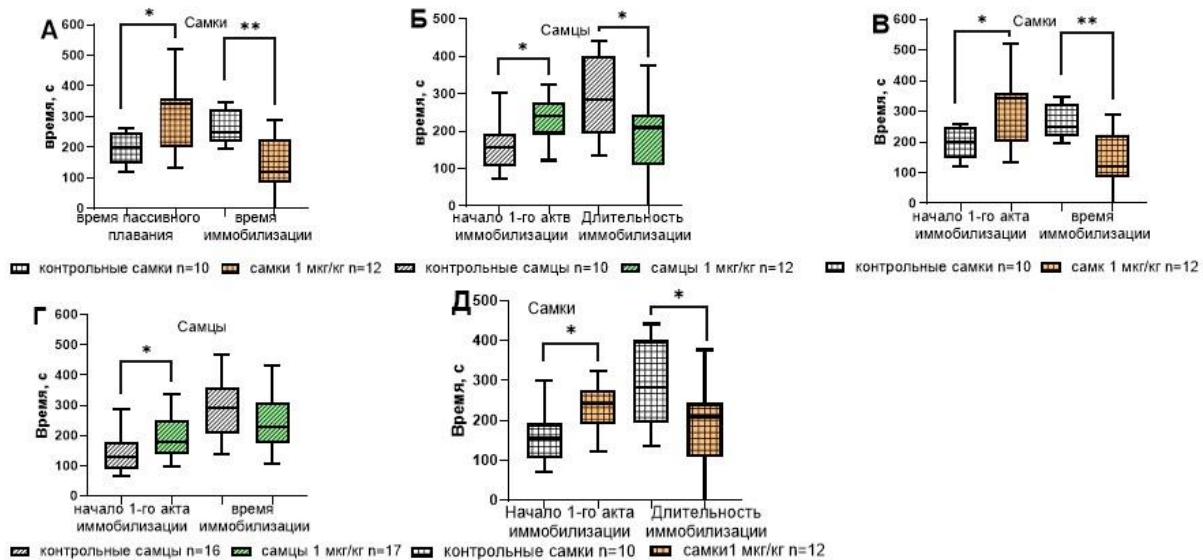


Рис. 6. Влияние хронического введения Ас-D-MPRG в дозе 1 мкг/кг в раннем постнатальном периоде на депрессивно-подобное поведение в тесте «Принудительное плавание». А – иммобилизация у самок препубертатном периоде; Б – иммобилизация у самцов в препубертатном периоде; В – иммобилизация у самок в пубертатном периоде; Г – иммобилизация у самцов в пубертатном периоде; Д – иммобилизация у самок у взрослых крыс. Значимые отличия от контроля отмечены) * (p < 0.05), ** (p < 0.01).

Глава 4. Влияние хронического введения АВП и Ас-D-MPRG в раннем постнатальном периоде на социальное поведение детенышей белых крыс

Изменения в социальном поведении были обнаружены только в модификации теста «Сибс/не сибс». После введения Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг у самок опытной и контрольной групп различий не наблюдалось. В опытной группе самцов, по сравнению с контрольной группой, увеличен пробег (медиана 64,5 (50,0-72,0), медиана 76,0 (66,0-86,0); p=0,030) и увеличено суммарное взаимодействие с чужаком (количество подходов + количество контактов + количество подъемов на решетчатую перегородку) (медиана 11,5 (10,0-16,0), медиана 17,0 (14,0-19,0); p=0,005). Коэффициент взаимодействия у опытных самцов сдвинут в сторону изучения нового объекта (Рис. 7А), что проявляется в снижении времени взаимодействия с сибсом и увеличении времени взаимодействия с не сибсом (Рис. 7Б).

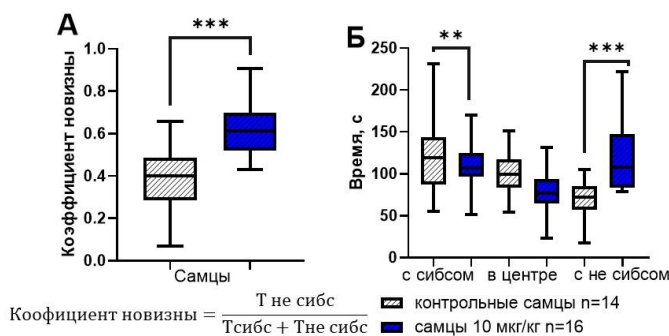


Рис. 7. Оценка зоосоциального взаимодействия у самцов, получавших Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг в раннем постнатальном периоде, в тесте «Социальное поведение» модификация «мама/чужак» на 32 день. Значимые отличия от контроля отмечены) ** (p < 0.01), *** (p < 0.001).

Глава 5. Исследование влияния хронического введения Ас-D-MPRG на поведение крыс в постнатальной модели РАС

При оценке социального поведения в вальпроатной постнатальной модели расстройства аутистического спектра (РАС) различия были выявлены только в модификации «сибс/не сибс», где сибс – это детеныш того же выводка и пола, что и испытуемый, а не сибс – детеныш из другого выводка, но того же возраста и пола. В данной модификации после постнатального введения Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг самцы из группы «ВПК+Ас-D-MPRG» проявляли больше актов взаимодействия (количество подходов + количество контактов + количество подъемов на решетчатую перегородку) как с сибсом (Рис. 8А), так и с чужаком (Рис. 8Б) по сравнению с самцами группы «ВПК». Коэффициент взаимодействия с новым объектом снижен у самцов группы «ВПК» по сравнению с группой «КОНТРОЛЕМ». Но самцы из группы «ВПК+Ас-D-MPRG» по сравнению с группой «ВПК» продемонстрировали больший коэффициент взаимодействия с новым незнакомым животным (Рис. 8В).

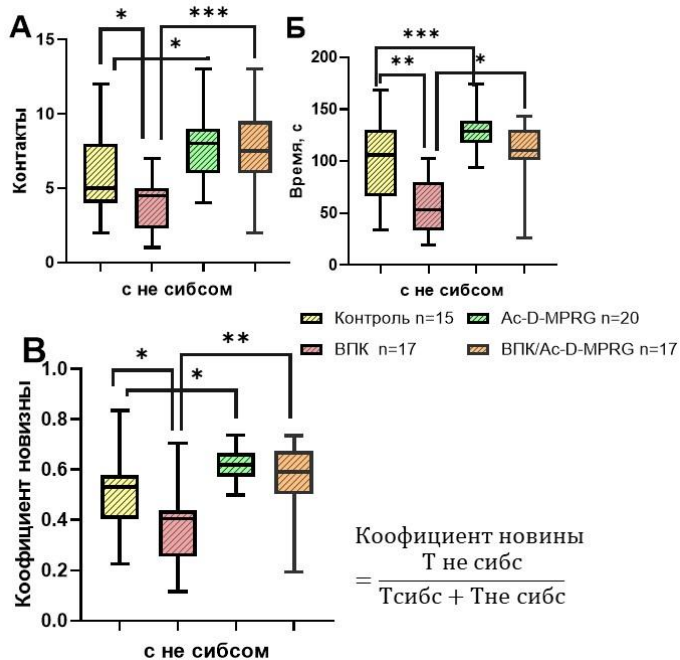


Рис. 8. Оценка зоосоциального взаимодействия у самцов, получавших Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг, в тесте «Социальное поведение» (модификация «сибс/не сибс») в вальпроатной модели РАС на 29 день. А – Суммарное количество взаимодействий с сибсом; Б – Суммарное количество взаимодействий с чужаком; В – Коэффициент взаимодействия. Значимые отличия от контроля: * - p < 0,05; *** - p < 0,001.

Полученные нами данные свидетельствуют, что постнатальное введение пептида тесте уменьшает негативное влияние ВПК на социальное поведение крыс в вальпроатной модели РАС.

Исследование влияния хронического введения Ас-D-MPRG на степень депрессивности крыс в постнатальной модели РАС. После введения Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг в группе самок наблюдалось уменьшение длительности первого акта иммобилизации (медиана 23,0 (9,0-66,0), медиана 14,0 (9,0-18,0); p=0,045), общей длительности иммобилизации (Рис. 9), по сравнению с группой «КОНТРОЛЬ». В группе самцов иммобилизация начинается позже (медиана 149,0 (120,0-185,0), медиана 188,5 (164,0-238,5); p= 0,02).

После введения Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг у самок, по сравнению самок из группы «ВПК», активное плавание наступало раньше (медиана 224,0 (161,0-298,0), медиана 329,0 (216,0-373,0); $p=0,02$) и увеличивалась длительность первого акта активного плавания (медиана 56,0 (39,0-81,0), медиана 82,0 (74,0-106,0); $p=0,009$). Иммобилизация наступает позднее (медиана 131,0 (91,0-163,0), медиана 182,0 (156,0-304,0); $p=0,038$), снижена длительность иммобилизации (Рис. 9), снижено общее количество актов иммобилизации (медиана 7,0 (5,0-8,0), медиана 4,0 (3,0-8,0); $p=0,04$). В группе самцов никаких различий не наблюдалось.

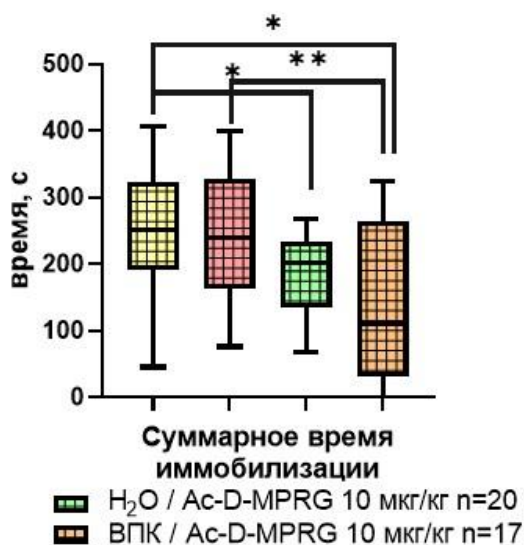


Рис. 9. Оценка суммарного времени иммобилизации у самок, постнатально получавших Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг, в тесте «Принудительное плавание» в вальпроатной модели РАС на 39 день; Значимые отличия от контроля: * - $p < 0,05$; *** - $p < 0,01$.

Исследование влияния хронического введения Ас-D-MPRG на уровень тревожности крыс в постнатальной модели РАС. После введения Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг в группе самок, по сравнению с самками группы «КОНТРОЛЬ», наблюдалось увеличение латентного периода первого захода в темный отсек (медиана 7,0 (5,0-12,0), медиана 17,0 (8,0-24,0); $p=0,012$), уменьшение количества выглядываний из темного отсека (медиана 4,0 (4,0-5,0), медиана 3,0 (2,0-4,0); $p=0,023$). В группе самцов наблюдалось только уменьшение количества выглядываний (медиана 3,0 (1,0-4,0), медиана 5,0 (4,0-6,0); $p=0,011$). После введения Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг в группе самок, по сравнению с самками группы «ВПК», наблюдалось увеличение времени нахождения на свету (Рис 10А), количества стоек в светлом отсеке (рис.10Б). В группе самцов наблюдалось увеличение времени нахождения на свету (Рис. 10В).

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что постнатальное введение Ас-D-MPRG с 14-го по 21-ый дни жизни, особенно в дозе 10 мкг/кг, способно снижать уровень тревожности у крыс, получавших вальпроат в постнатальной модели РАС. Причем это действие тетрапептида наиболее выражено в группе самок.

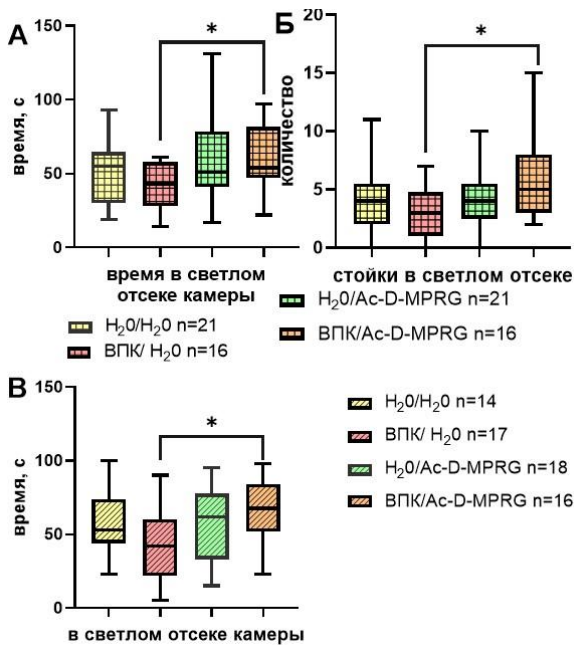


Рис. 10. Оценка уровня тревожности у самок и самцов в вальпроатной модели РАС после введения Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг в тесте «Светло-темная камера» на 42 день жизни. А – Время в светлом отсеке камеры (самки); Б – Стойки в светлом отсеке камеры (самки); В – Время в светлом отсеке камеры (самцы). Значимые отличия от контроля: * - $p < 0,05$.

Исследование влияния хронического введения Ас-D-MPRG на выработку реакции активного избегания у крыс в постнатальной модели РАС. После введения Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг в группе самок, по сравнению с самками группы «КОНТРОЛЬ», наблюдалось значимое увеличение количества ВР в 1-ый, 4-ый дни тестирования и при проверке сохранения навыка (Рис. 11А). В группе самцов наблюдалось значимое увеличение количества ВР в 1-ый, 2-ой, 3-ий дни обучения (Рис. 11Б).

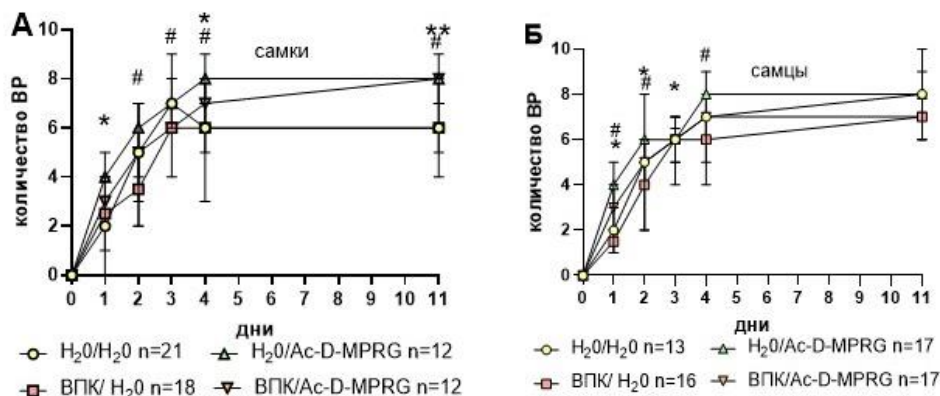


Рис. 11. Скорость обучения при выработке навыка в тесте «УРАИ» после постнатального введения Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг в вальпроатной модели РАС на 43-47 дни жизни; ВР-выполненные реакции; А – Количество ВР у самок; Б – Количество ВР у самцов. * - сравнение группы «КОНТРОЛЬ» и «Ас-D-MPRG»; # - сравнение групп «ВПК» и «ВПК/Ас-D-MPRG». Значимые отличия от контроля: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$.

После введения Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг в группе самок, по сравнению с самками группы «ВПК», наблюдалось значимое увеличение количества ВР со 2-го по 4-ый дни тестирования, при проверке сохранения навыка (Рис. 11А). В группе самцов наблюдалось значимое увеличение количества ВР в 1-ый, 2-ой, 4-ый дни тестирования (Рис. 11Б).

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что постнатальное введение Ас-D-MPRG с 14-го по 21-ый дни жизни в дозе 10 мкг/кг, улучшает выработку УРАИ на фоне действия ВПК в постнатальной модели РАС.

Обобщая полученные данные, мы можем констатировать, что постнатальное хроническое введение Ас-D-MPRG с 14-го по 21-ый день жизни животного снижает степень депрессивности, уровень тревожности и ускоряет выработку УРАИ на фоне в/б постнатального хронического введения ВПК в постнатальной модели РАС.

Обобщая результаты проведенных экспериментов показали, что АВП и аналог его С-концевого фрагмента - Ас-D-MPRG при хроническом введении в раннем постнатальном периоде развития с 3-го по 7-ой дни жизни способны вызывать отставленные поведенческие эффекты, наблюдаемые в препубертатный, пубертатный периоды и у взрослых половозрелых животных.

Чем же можно объяснить столь разнообразные ответы организма на неонатальное хроническое введения АВП и Ас-D-MPRG? В данном случае происходит сложное взаимодействие созревания морфофункциональных структур головного мозга и действия пептида. Различия в нейротропной активности использованных препаратов может быть связано с их взаимодействием с различными рецепторами, а также внутриклеточными эффекторами и факторами роста нервной ткани. Так, применение разных (сильно отличающихся друг от друга) доз одного и того же вещества может, с одной стороны, приводить к активации, а в другом к десенситизации и интнализации рецепторов.

Опираясь на выше сказанное, можно предположить, что неонатальное хроническое введение С-концевого фрагмента Ас-D-MPRG, как и введение гормона АВП, может вызывать стойкие изменения и модулировать активность не только вазопрессинергической системы головного мозга, но и системы катехоламинов. Поскольку в процессах регуляции уровня тревожности, депрессивно-подобного поведения и эмоциональной реактивности, а также ОИР и обучения принимают участие структуры центральной нервной системы, которые связаны, дофамин- и норадренергической, и конечно же с вазопрессинергическими системами, введение пептидных соединений вазопрессинового ряда, способных вызывать изменения их активности, может приводить к разнообразным поведенческим эффектам.

Важно отметить, что в период введения препаратов (с 3 по 7 дни жизни) формируются добавочные мелкоклеточные ядра вазопрессинергической системы. В это время, экзогенное введение тетрапептида Ас-D-MPRG и АВП, возможно, способны повлиять на синаптогенез и модифицировать работу нейронов в пределах гематоэнцефалического барьера.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведено исследование хронического постнатального введения АВП и аналога С-концевого фрагмента АВП- Ас-D-MPRG на различные виды поведения крыс разных возрастных групп.

Было изучено влияние хронического введения АВП и Ас-D-MPRG в раннем постнатальном периоде на ориентировочно-исследовательское поведение, степень депрессивности, уровень тревожности и обучаемость самцов и самок крыс в препубертатный, пубертатный период и у взрослых половозрелых животных. Было установлено, что хроническое введение аналога АВП(6-9) - Ас-D-MPRG снижает тревожность, эмоциональность и депрессивность животных, а также улучшает выработку навыка с отрицательным подкреплением. Отставленные эффекты хронического постнатального введения тетрапептида наиболее выражены в стрессогенных условиях эксперимента и прослеживаются в течение длительного времени. Такое же введение АВП оказалось менее эффективным.

Также было показано, что постнатальное хроническое введение Ас-D-MPRG в вальпроатной модели расстройства аутистического спектра нивелирует негативное влияние ВПК на поведение крыс: уровень тревожности, эмоциональности и степень депрессивности понижается, а также улучшает стремление к социальной новизне и обучение с отрицательным подкреплением.

Обобщая полученные нами данные, можно заметить, что характер и направленность нейротропного действия пептида Ас-D-MPRG сходны с таковыми у аргинин-вазопрессина. При этом исследованный тетрапептид значительно более эффективен в отношении обучения и эмоционального состояния животных, чем целый гормон. Высокая активность Ас-D-MPRG при интраназальном способе введения позволяет рассматривать этот препарат как перспективный с точки зрения возможного клинического применения.

ВЫВОДЫ

1. В стрессогенной модификации теста «Открытое поле» у самок постнатальное хроническое введение Ас-D-MPRG с 3-го по 7-й дни жизни в дозах 0,01 и 1 мкг/кг приводит к снижению горизонтальной двигательной активности в препубертатном периоде, а в пубертатном увеличивает её. Введение АВП в дозах 1 и 10 мкг/кг в свою очередь не оказывает влияние на ОИР;
2. Постнатальное хроническое введение Ас-D-MPRG с 3-го по 7-й дни жизни в дозах 1 и 10 мкг/кг наиболее эффективно в условиях теста «Светло-темная камера»: приводит к снижению уровня тревожности животных, что наиболее выражено в группе самок в

препубертатном и пубертатном периодах. Введение АВП в обеих дозах не приводит к снижению уровня тревожности у самцов и самок в весь период исследования;

3. Постнатальное хроническое введение Ас-D-MPRG с 3-го по 7-й дни жизни во всех трех дозах вызывает уменьшение проявления депрессивно-подобного поведения животных в тесте «Принудительное плавание» у самцов и самок всех возрастных групп. Введение АВП оказывает аналогичное влияние только при использовании дозы 10 мкг/кг;
4. Постнатальное хроническое введение Ас-D-MPRG и АВП с 3-го по 7-й дни жизни не влияет на обучение с положительным подкреплением, но приводит к улучшению обучения с отрицательным подкреплением у самок и самцов всех возрастных групп при использовании всех доз;
5. Постнатальное хроническое введение Ас-D-MPRG и АВП с 3-го по 7-й дни жизни в дозе 10 мкг/кг усиливает стремление к социальной новизне большей степени у самцов крыс только в модификации «сибс/не сибс»;
6. Хроническое введение пептида Ас-D-MPRG в дозе 10 мкг/кг с 14-го по 21-ый дни жизни в тесте «мама/чужак» и «сибс/не сибс» усиливает стремление к социальной новизне в основном у самцов в постнатальной вальпроатной модели РАС;
7. Хроническое введение Ас-D-MPRG с 14-го по 21-ый дни жизни во всех исследуемых дозах снижает негативные влияния ВПК на степень депрессивности в постнатальной вальпроатной модели РАС.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи, опубликованные в журналах Scopus, Web of Science, RSCI и в изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ.015.7 по специальности 1.5.5 – Физиология человека и животных:

1. Borodina K. V., Stakhanova A., Martinovich V.P., Voskresenskaya O.G., Golubovich V.P., Kamensky A.A. Synthesis and study of the effect of arginine- vasopressin (6-9) analogue on the behavior of rats of different ages. // Proc. Natl. Acad. Sci. Belarus, Chem. Ser. 2021. V. 57. P. 61–69. (IF – 0.208; Wos, Scopus, RSCI) (1.04 / 0,416)*.
2. Stakhanova, A.A., Voskresenskaya, O.G., Golubovich, V.P., Kamensky A.A. Effect of the Ac-D-MPRG peptide based on the C-terminal fragment of arginine-vasopressin(6–9) on the behavior of rats of different ages. // Moscow Univ. Biol.Sci. Bull. 78, 2023. V.78. P.100–105 (IF – 0.66; Wos, Scopus, RSCI, BAK) (0,809 / 0,485) *.
3. Стаханова А.А., Воскресенская О.Г., Голубович В.П., Каменский А.А. Влияние аргинин-вазопрессина и тетрапептида Ас-D-MPRG, вводимых в неонатальном периоде, на выработку условной реакции активного избегания у белых крыс. // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2023b. Т. 86. С. 8–12. (IF – 0.567; RSCI, BAK) (0,578 /0,3) *.

* - Объем в условных печатных листах / вклад автора в условных печатных листах.

Тезисы докладов в рецензируемых журналах

1. А. А. Стаханова, О. Г. Воскресенская, В. П. Голубович, А. А. Каменский. Отставленные эффекты хронического неонатального введения аналога АВП(6-9) - Ас-D-MPRG на поведение крыс разных возрастных групп. *Acta Naturae (русскоязычная версия)*, С. 56–57, 2017 (IF – 2.204; Wos, Scopus, RSCI)
2. A. Stakhanova, O. Voskresenskaya, A. Kamensky, V. Golubovich. P.0240 prenatal administration of vasopressin influences on the postpartum behaviour in white rats // *European Neuropsychopharmacology*. — 2021. — Vol. 53. — P. S174. (IF – 5.415; Wos, Scopus, RSCI)
3. A. Stakhanova, O. G. Voskresenskaya, A. A. Kamensky, V. P. Golybovich. Delayed effects of chronic neonatal injection of arginine-vasopressin (6-9) analog, Ac-D-MPRG, on behaviour of rats of different ages // *European Neuropsychopharmacology*. — 2016., Vol. 26.— P.1.h.036. (IF – 5.415; Wos, Scopus, RSCI)
4. А. А. Стаханова, О. Г. Воскресенская, В. П. Голубович, А. А. Каменский Отставленные эффекты хронического неонатального введения аналога АВП (6-9) - Ас-D-MPRG на поведение крыс разных возрастных групп // Научное издание Белорусские лекарства. Материалы международной научно-практической конференции. Минск, 17-18 ноября 2016 г. — ГНУ Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси Минск, 2016. — С. 259–263.
5. А Стаханова А. А., Голубович В. П., Воскресенская О. Г. Купирование негативного влияния вальпроатной кислоты неонатальным введением Ас-D-MPRG в модели расстройства аутистического спектра // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. — 2023. — Т.86, №11s. — С. 139a–139a. (IF – 0.567; RSCI, BAK)

Тезисы докладов в сборниках материалов международных и всероссийских конференций

1. А. А. Стаханова, О. Г. Воскресенская, В. П. Голубович, А. А. Каменский. Отставленные эффекты хронического неонатального введения аналога АВП(6-9) - Ас-D-MPRG на поведение крыс разных возрастных групп // Сборник материалов конференции с международным участием Научно-методические проблемы нормальной физиологии и медицинской физики. — Москва, Россия, 2017. — С. 133–134.
2. Стаханова А.А., Воскресенская О.Г., Каменский А.А. Отставленные эффекты хронического неонатального введения аналога АВП(6-9) и его аналога - Ас-D-MPRG на поведение крыс разных возрастных групп // Материалы XXIII съезда физиологического общества им. И.П. Павлова, 2017 С. 1232-1234.
3. A. Selezneva, A. Stananova, O. Voskresenskaya et al. The effect of chronic neonatal injection of AVP(6-9) and its analogue Ac-D-MPRG on the social behavior of rats // Book of abstracts VI international conference Chemistry, structure and Function of biomolecules. — Minsk, 2018. — P. 22–25.
4. A. Selezneva, A. Stahanova, O. Voskresenskaya et al. The effect of chronic neonatal injection of AVP (6-9) and its analogue Ac-D-MPRG on the social behavior of rats // VI international conference chemistry, structure and function of biomolecules. — Minsk, 2018. — P. 181–183.
5. А. А. Стаханова, О. Г. Воскресенская, В. П. Голубович, А. А. Каменский. Влияние хронического неонатального введения аналога АПВ(6-9) ас-d-mprg на поведение белых крыс в онтогенезе // экспериментальная и клиническая фармакология. — Фолиум М, 2018. — С. 231–232.
6. Стаханова А. А. Отставленные эффекты хронического неонатального введения аналога АВП(6-9) – Ас-D-MPRG на социальное поведение крыс // Материалы Международного молодежного научного форума Ломоносов-2018 / Под ред. И. А. Алешковский, А. В. Андриянов, Е. А. Антипов. — Т. 1. — Москва: Москва, 2018. — С. 39.
7. А.А. Стаханова, О.Г. Воскресенская, А.А. Каменский, В.П. Голубович. Влияние хронического неонатального введения вазопрессина и его аналога Ас-D-MPRG на поведение белых крыс в онтогенезе // трудов Международной конференции Белорусские лекарства. — институт биоорганической химии НАН Белоруси Минск, 2019.
8. К.В. Бородина, А.А. Селезнева, А.А. Стаханова и др. Влияние хронического неонатального введения с-концевого фрагмента аргинин-вазопрессина и его структурного аналога на социальное поведение крыс // Молодеж в науке. — Минск, 2020. — С. 488–491.
9. А. А. Stakhanova, O. G. Voskresenskaya, K. V. Borodina et al. Delayed effects of chronic neonatal injection of argininevasopressin (6-9) analog, ac-d-mprg, on behavior of rats of different ages // Book of Abstracts of The VII International Conference on Chemistry, Structure and Function of Biomolecules. — Minsk, Belarus, 2021. — P. 61–61.
10. А.А. Стаханова, О.Г. Воскресенская, К.В. Бородина и др. Отставленные эффекты хронического неонатального введения аналога АВП(6-9) –Ас-D-MPRG на когнитивные процессы крыс разных возрастных групп // III Объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов VII Съезд физиологов СНГ. — Т. 1. —Москва, 2021. — С. 148–148.
11. О.Г. Воскресенская, А.А. Стаханова, В.П. Голубович, А.А. Каменский. Сравнительный анализ эффектов острого и хронического введения тетрапептида Ас-D-MPRG на поведение белых крыс в онтогенезе // III объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов, VII съезд биохимиков России, X Российский симпозиум белки и пептиды, VII Съезд физиологов СНГ (научные труды.Сочи, Дагомыс, 3–8 октября 2021). — Т. 1. С. 95–96.
12. Е.И. Квятковская, К.В. Бородина, А.А. Стаханова, В.П. Голубович. Синтез и исследование биологической активности пептидного аналога аргинин-вазопрессина (6-9)// Химия, физика, биология, математика: теоретические и прикладные исследования. — Т. 58. — Москва: Москва, 2023. — С. 27–32.