

УДК 612.821.2

МНЕМОТРОПНЫЙ ЭФФЕКТ ИНТРАНАЗАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ ПЕПТИДОВ ТИМУСА

*А.В. Горлова¹, Д.А. Павлов¹, А.Ю. Ольховик²,
А.В. Новоселецкая¹, Н.М. Киселева³, А.Н. Иноземцев¹*

¹Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова
Биологический факультет
Кафедра высшей нервной деятельности
г. Москва, Россия

²ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова
Министерство обороны Российской Федерации
кафедра военной токсикологии и медицинской защиты
г. Санкт-Петербург, Россия

³ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский
университет им. Н.И. Пирогова Минздрава России
кафедра фармакологии
г. Москва, Россия

Аннотация. В настоящее время стало известно, что нервная и иммунная системы имеют тесные взаимосвязи, участвующие в регуляции системного гомеостаза посредством продукции и секреции идентичных регуляторных пептидов. По теории пептидного континуума И.П. Ашмарина, ряд препаратов на пептидной основе могут обладать неожиданными воздействиями и сложной зависимостью «доза—эффект». Для снижения возможного полимодального эффекта со стороны других пептидных систем, были использованы малые дозы иммуноактивных пептидов тимуса путём их доставки через слизистую носа.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния интраназального введения пептидов тимуса на поведение животных.

Работа проведена на 120 крысах Wistar весом в среднем 200 ± 10 г. В течение пяти дней один раз в сутки животным интраназально вводили препараты объемом 100 мкл: тактивин в дозе 5 мкг/кг, тимозин фракция 5 (Hoffmann-La Inc., Швеция) в дозе 5 мкг/кг и физиологический раствор. У всех животных вырабатывали условный рефлекс активного избегания (УРАИ) по стандартной методике с последующим проведением функциональных нарушений: сбой реакции избегания и пространственной переделки навыка.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием непараметрического критерия Вилкоксона в компьютерной программе «Statistica 8.0».

Полученные экспериментальные данные указывают на то, что пептиды тимуса ускоряют процесс обучения животных. Функциональные нарушения резко уменьшали воспроизведение реакции избегания у животных контрольной группы. Пептиды тимуса полностью предотвращали сбой реакции избегания



и статистически значимо уменьшили негативный эффект, вызванный пространственной переделкой навыка.

Таким образом, был выявлен оптимизирующий эффект тактивина и тимозина фракции 5 на память. Мнемотропный эффект пептидов тимуса при их интраназальном введении получен впервые. Из-за быстрого всасывания активных веществ в носовой полости скорость развития терапевтического эффекта при интраназальном введении оказывается сравнимой с инъекционным путем введения.

Ключевые слова: интраназальное введение, пептиды тимуса, оборонительный условный рефлекс, обучение.

Введение. Установлено, что нервная и иммунная системы имеют тесные взаимосвязи, участвующие в регуляции системного гомеостаза посредством продукции и секреции идентичных регуляторных пептидов (пептидных гормонов, цитокинов, хемокинов, интегринов и других молекул) [1]. По теории пептидного континуума И.П. Ашмарина, ряд препаратов на пептидной основе могут обладать неожиданными воздействиями и сложной зависимостью «доза—эффект» [2—3]. Для снижения возможного полимодального эффекта со стороны других пептидных систем, были использованы малые дозы иммуноактивных пептидов тимуса путем их доставки через слизистую носа.

Цель работы состояла в исследовании влияния интраназального введения пептидов тимуса на поведение животных.

Материалы и методы. Работа проведена на 120 крысах Wistar весом в среднем 200 ± 10 г. Животных содержали в виварии при температуре $+22—24$ °C и свободном доступе к воде и пище. В течение пяти дней один раз в сутки животным интраназально вводили препараты объемом 100 мкл: тактивин в дозе 5 мкг/кг, тимозин фракция 5 (Hoffmann-La Inc., Швеция) в дозе 5 мкг/кг и физиологический раствор. У всех животных вырабатывали условный рефлекс активного избегания (УРАИ) по стандартной методике с последующим проведением функциональных нарушений: сбоя реакции избегания и пространственной переделки навыка [4—5].

УРАИ вырабатывали у крыс в челночной камере. К условному раздражителю (звук 700 Гц) через 10 секунд изолированного действия подключался безусловный раздражи-

тель — электрический ток силой 0,4—0,9 мА. При переходе животного через отверстие в другую половину камеры во время действия тока звук и ток выключались. Если животное переходило во время следования только звукового сигнала, тока не следовало, а звук прекращался. Если животное не совершало перехода при действии раздражителей, то через 10 с после включения тока они выключались автоматически. Каждый опыт состоял из 25 предъявлений с межсигнальным периодом 30 с. Опыты проводили ежедневно в течение 14 дней до формирования устойчивого рефлекса (более 80% реакций избегания от числа предъявлений).

В работе также использовали два приема функциональных нарушений УРАИ, которые вызывались экстренным изменением экспериментальных условий: сбой и пространственную переделку навыка.

После достижения животными критерия обученности УРАИ (80% реакций избегания) в опыт проводили сбой реакции избегания: перебегание крысы в другую половину камеры переставало приводить к выключению раздражителей, что повторялось при 5 побежках; таким образом, животное подвергалось воздействию электрическим током в любой половине камеры [5]. После пятой реакции ток выключался немедленно, а звук — спустя 2 с. Затем в течение 20 предъявлений тестировали уровень воспроизведения реакций избегания в прежних условиях.

Вторым функциональным нарушением была пространственная переделка навыка. После достижения животными критерия обученности УРАИ осуществляли перемену местоположения отверстия (ПМПО) — от-



верстие, через которое животное переходило в другую половину камеры при обучении, закрывали и открывали другое — в противоположной стороне перегородки

Статистическую обработку результатов проводили с использованием непараметрического критерия Вилкоксона в компьютерной программе «Statistica 8.0».

Результаты и их обсуждение. Процесс обучения в опытных группах животных, получавших тимические пептиды, происходил значительно быстрее, чем в контрольной группе, на протяжении 7 дней выработки УРАИ.

В процессе формирования реакции избегания в каждой группе животных (за исключением контрольной группы) до 3 дня выработки рефлекса наблюдалось сначала увеличение числа межсигнальных реакций (МСР), а затем снижение. Группы тимических пептидов тимозина фракции 5 и тактивина в дозировке 5 мкг/кг демонстрировали достоверно меньшее ($p < 0,05$) число МСР по сравнению с контрольной группой во все дни выработки УРАИ.

После сбоя наблюдалось резкое нарушение выработанного навыка у животных контрольной группы. Это выражалось в том, что в первом предъявлении после сбоя число реакций избегания уменьшилось в 5—6 раз. Пептиды тимуса предотвращали функциональное нарушение и число реакций избегания после сбоя в первом блоке предъявлений не уменьшилось у всех крыс. Полученные нами экспериментальные данные на фоне тактивина и тимозина фракции 5 согласуются с данными о влиянии пептидов тимуса при внутрибрюшинном введении в дозе 0,5 мг/кг на сбой реакции избегания [6].

Помимо снижения условных реакций относительно исходного уровня наблюдался рост генерализованной двигательной активности животных, который выражался в возрастании числа МСР.

Рост числа МСР, свидетельствующий об эмоциональном напряжении, был менее вы-

ражен в опытных группах животных, получавших тимические пептиды в различных дозировках. Кроме того, в этих группах отсутствовали прыжки, хаотичный бег, вокализация и другие реакции, характеризующие срыв высшей нервной деятельности.

Как и при сбое, наибольшее нарушение реакции избегания происходило сразу после ПМПО. Пептиды тимуса статистически значительно уменьшили негативный эффект, вызванный ПМПО, обеспечив более высокий уровень воспроизведения реакции избегания в первых пяти и последующих предъявлениях по сравнению с контролем.

В наших опытах после ПМПО осуществление старой реакции было физически невозможно, поскольку старое отверстие закрывалось. Но попытки перейти на противоположную половину камеры через закрытое отверстие осуществлялись. Таким образом, в первых пяти предъявлениях после ПМПО наблюдали большое число подходов всех групп животных к закрытому отверстию, что указывает на прочность памятного следа о пространственном компоненте ранее выработанной реакции. В последующих предъявлениях эти реакции угасали быстрее на фоне пептидов тимуса.

Полученные нами данные говорят о возможности влияния пептидов тимуса на более быстрое забывание потерявшего значимость навыка и усвоения новой реакции. Эти факты находятся в соответствии с данными об ускорении угасания старой и усвоении новой реакции под влиянием ноотропов [7].

Таким образом, был выявлен оптимизирующий эффект тактивина и тимозина фракции 5 на память. Ноотропный эффект пептидов тимуса при их интраназальном введении получен впервые. Из-за быстрого всасывания активных веществ в носовой полости скорость развития терапевтического эффекта при интраназальном введении оказывается сравнимой с инъекционным путем введения, однако этот способ является предпочтительнее в клинических исследованиях [2].

ВЫВОДЫ

1. Показано активирующее влияние пептидов тимуса на процесс формирования условного рефлекса активного избегания у крыс, которое более выражено проявляется на начальных этапах формирования памятного следа.

2. Интраназальное введение пептидов тимуса снижает степень нарушений, вызванных сбоем реакции избегания и переменной местоположения отверстия, что свидетельствует о стресспротекторных свойствах пептидов и указывает на наличие ноотропного эффекта в спектре их действия.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ашмарин И.П., Обухова М.Ф. Современное состояние гипотезы о функциональном континууме регуляторных пептидов // Вестник РАМН. 1994. № 10. С. 28—34.

2. Пальцев М.А., Кветной И.М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии 2-е изд. М.: Изд-во «Медицина», 2008. 512 с.

3. Шабанов П.Д. Фармакология лекарственных препаратов пептидной структуры // Психофармакол. биол. нарком. 2008. Т. 8. № 3—4. С. 2399—2425.

4. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высшая школа, 1991. С. 175—189.

5. Иноземцев А.Н., Прагина Л.Л. Методические приёмы стрессогенных воздействий для исследования ноотропных влияний на обучение и память // Вест. Моск. ун-та. Сер. 16: Биология. 1992. № 4. С. 23—31.

6. Киселева Н.М., Новоселецкая А.В., Зимина И.В., Иноземцев А.Н., Арион В.Я. Влияние тактивина на функциональное нарушение реакции избегания у крыс // Бюл. эксперим. биол. и мед. 2009. Т. 147. № 1. С. 75—77.

7. Иноземцев А.Н., Катица И.Г., Гарибова Т.Л., Бокиева С.Б., Воронина Т.А. Сопоставление влияния ноотропов и анксиолитиков на функциональные нарушения реакции избегания у крыс // Вест. Моск. ун-та. Сер. 16: Биол. 2004. № 3. С. 24—30.

MNEMOTROPIC EFFECT OF INTRANASAL ADMINISTRATION OF THE THYMUS PEPTIDES

A.V. Gorlova¹, D.A. Pavlov¹, A.Yu. Olkhovik²,
A.V. Novoseletskaya¹, N.M. Kiseleva³, A.N. Inozemtsev¹

¹Lomonosov Moscow State University
Faculty of Biology
Department of Higher Nervous Activity
Moscow, Russia

²Military Medical Academy named after S.M. Kirov Russian Defense Ministry
Department of Military Toxicology and health protection,
St. Petersburg, Russia

³Pirogov Russian National Research Medical University
Department of Pharmacology
Moscow, Russia

Annotation. Now it became known that the nervous and immune systems have complex interrelations involved in the regulation of systemic homeostasis through the production and secretion of identical regulatory peptides.

According to the I.P. Ashmarin theory of peptide continuum, a number of drugs on the basis of peptide can have unexpected effects and complex dependence "dose-effect". To reduce the possible multimodal effects of other peptide systems, small doses of the thymus immunoactive peptides have been injected.



The purpose of this study was to investigate the effect of intranasal administration of the thymus peptides on the behavior of animals.

The work was carried out on 120 Wistar rats weighing on average 200 ± 10 g. Within five days of once a day, animals were intranasally injected with saline (100 μ l), taktivin (5 μ g/kg) and thymosin fraction 5 (by Hoffmann-La Inc., Sweden) at a dose of 5 μ g/kg.

In all animals, a conditioned reflex of active avoidance (CRAV) was developed according to standard methods followed then by functional disorders: the crash of avoidance and skill spatial alteration.

Statistical processing of results was performed using nonparametric Wilcoxon test in the computer program "Statistica 8.0".

The obtained experimental data indicate that the thymus peptides accelerate the learning process. Functional disorders dramatically reduced the reproduction of avoidance in the control group. The thymus peptides completely prevented the crash of avoidance responses and significantly reduced the negative effect caused by skill spatial alteration.

Thus, we revealed facilitative effect of taktivin and thymosin fraction 5 on the memory. Mnemotropic effect of thymus peptides administrated intranasally is obtained for the first time. Because of the rapid absorption of active substances in the nasal cavity, the rate of development of a therapeutic effect in intranasal routes of administration is comparable to the effect of the intraperitoneal injection.

Key words: intranasal injection, thymus peptides, avoidance responses, learning.

REFERENCES

1. Ashmarin I.P., Obukhova M.F. Current state of the hypothesis on functional continuum of regulatory peptides. *Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk*, 1994, no. 10, pp. 28—34.

2. Paltsev M.A., Kvetnoy I.M. Guide of neyro-immunoendokrinology. 2nd edition. Moscow, "Medicine", 2008. 512 p.

3. Shabanov P.D. Pharmacology of Drugs of Peptide Structure. *Psychopharmacol. boil. narcol.*, 2008, vol. 8, no. 3—4, pp. 2399—2425.

4. Buresh Ya., Bureshova O., Houston D.P. Techniques and basic experiments on the brain and behavior. Moscow, Higher School, 1991. P. 175—189.

5. Inozemtsev A.N., Pragina L.L. Teaching methods for the study of the effects of stress neuro-protective effects on learning and memory. *Vest. Mosk. Univ. Ser. 16: Biology*, 1992, no. 4, pp. 23—31.

6. Kiseleva N.M., Novoseletskaya A.V., Zimina I.V., Inozemtsev A.N., Arion V.Y. Effect of taktivin on functional disturbances in avoidance reaction in rats. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2009, vol. 147, no. 1, pp. 70—72.

7. Inozemtsev A.N., Kapitsa I.G., Garibova T.L., Bokieva S.B., Voronina T.A. Comparison of the effect of nootropics and anxiolytics on functional disorders avoidance response in rats. *Vest. Mosk. Univ. Ser. 16: Biology*, 2004, no. 3, pp. 24—30.