

ВЛИЯНИЕ ГОРМОНА ТИМУСА ТИМУЛИНА НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ ОБУЧЕНИЯ И ПАМЯТИ У ТИМЭКТОМИРОВАННЫХ ЖИВОТНЫХ

© 2017 г. А.В. Новоселецкая*, Н.М. Киселева**, А.Н. Иноземцев*

*МГУ имени М. В. Ломоносова, биологический факультет,
кафедра высшей нервной деятельности, Москва, Россия;

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

Поступила: 09.08.2016. Принята: 22.11.2016

Изучено влияние гормона тимуса тимулина и полипептидов селезенки на обучение и память у тимэктомированных животных. Установлено, что тимэктомия у трехнедельных крыс устраняла способность к выработке условного рефлекса активного избегания. Введение тимулина в дозе 0,15 мг/кг в течение 6 месяцев после операции, в отличие от полипептидов селезенки, восстанавливало способность к обучению.

Ключевые слова: тимус, тимулин, тимэктомия, обучение, память

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время интенсивно изучается взаимодействие нервной и иммунной систем, что привело к созданию нового направления исследований, получившего название нейроиммунофизиологии [1]. При этом неисследованным остается вопрос совместной работы двух систем при обучении и когнитивных нарушениях.

В последние годы было выявлено сходство в механизмах функционирования систем клеток (нейронов и лимфоцитов), осуществляющих неврологическую и иммунологическую память [1, 2]. Известно, что основные функции памяти (кодирование, хранение, распознавание) как в нейронах, так и в лимфоцитах

осуществляются на молекулярном уровне метаболизмом белков молекулярной массой 20 кД. В функциях неврологической памяти важную роль играют межклеточные взаимодействия нейронов мозга, осуществляющиеся через синапсы и синтезируемые в клетках мозга нейрокины. В функциях иммунологической памяти ведущую роль также играют межклеточные взаимодействия с помощью мембранных рецепторов лимфоцитов и синтезируемых лимфоцитами лимфокинов. Некоторые из регуляторных пептидов, продуцируемые в иммунной и нервной системах, идентичны по своим структурным и функциональным свойствам [1].

Нейроиммунологический подход, рассматривающий связь между системами клеток неврологической и иммунологической памяти человека, является перспективным направлением в изучении механизмов памяти – важнейшего компонента познавательной деятельности человека.

Известны ключевые структуры нервной системы в процессах обучения и памяти (гиппокамп, новая кора, в частности ее соматосенсорная область) [3–7]. Но конкретные звенья иммунной системы, задействованные в этих процессах, остаются неизвестными. На наш взгляд, главным кандидатом на эту роль является центральный орган иммунной системы – тимус [8]. Прямое доказательство роли тимуса в процессах обучения и памяти показано

Адрес: 119234 Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, МГУ имени М. В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра высшей нервной деятельности. Новоселецкая Анна Владимировна. Тел. 8(495)939-50-01. E-mail: anna.novoseletskaia@gmail.com

Авторы:

Новоселецкая А. В., к.б.н., старший научный сотрудник МГУ имени М. В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра высшей нервной деятельности, Москва, Россия;
Киселева Н. М., д.б.н., профессор, кафедра фармакологии ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н. И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия;

Иноземцев А. Н., д.б.н., ведущий научный сотрудник, МГУ имени М. В. Ломоносова, биологический факультет, кафедра высшей нервной деятельности, Москва, Россия.

с помощью тимэктомии [9–10]. Однако вопрос о возможности коррекции нарушений памяти при дисбалансе нейроиммунных взаимодействий в отсутствие тимуса остается невыясненным. Для ответа на этот вопрос мы предлагаем использовать тимулин – единственный гормон тимуса, который исчезает после тимэктомии.

Таким образом, в настоящей работе поставлена **цель** проверить возможность коррекции нарушений памяти при дисбалансе нейроиммунных взаимодействий при отсутствии тимуса.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на 60 крысах Wistar. Животных содержали в стандартных условиях вивария при 12-часовом цикле свет–темнота и свободным доступом к пище и воде.

Условный рефлекс активного избегания (УРАИ) вырабатывали у крыс в челночной камере размером 60 × 30 × 30 см, разделенной перегородкой с отверстием (10 × 10 см) на два одинаковых отделения. Отделения были снабжены электрифицированным решетчатым полом из стальных прутьев диаметром 0,6 см и интервалом 1 см. Реакцию избегания вырабатывали по стандартной методике. К условному раздражителю (звук 700 Гц) через 10 секунд изолированного действия подключался безусловный раздражитель – электрический ток силой 0,7 мА. При переходе животного через отверстие в другую половину камеры во время действия тока (реакция избавления) звук и ток выключались. Если животное переходило во время следования только звукового сигнала (реакция избегания), то тока не следовало, а звук выключался. 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 7 дней до формирования устойчивого рефлекса (более 80% реакций избегания от числа предъявлений). Фиксировалось количество реакций избегания и избавления.

В I серии экспериментов 1-ой группе животных (n = 10) в течение 6 месяцев через сутки внутрибрюшинно вводили тимулин – в дозе 0,15 мг/кг; 2-ой (n = 10) – 0,5 мг/кг полипептидов селезенки (препарат идентичен по биохимическому способу получения тативина (Патент № 2112523, 1998 г.)); 3-ей – 0,9% раствор

NaCl (контрольная группа, n = 10). Все препараты вводили в объеме 0,5 мл.

Во II серии у крыс проводили ложную операцию. На следующий день после операции им начинали вводить препараты в тех же дозах, что и в первой серии.

В III серии экспериментов у крыс в возрасте 3 недель и весом 160 г проводили тимэктомию. На следующий день после операции одним экспериментальным животным начинали вводить тимулин (n = 10), а другим – полипептиды селезенки (n = 10) в указанной выше дозе, контрольным животным (n = 10) – физиологический раствор. Препараты животным после операций вводили в течение 6 месяцев через день. Через 6 месяцев у всех животных вырабатывали условный рефлекс активного избегания (УРАИ).

Статистическое сравнение результатов проводили по непараметрическому критерию Вилкоксона, используя программу STATISTICA 8.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Полученные в первой серии экспериментальные данные свидетельствуют о том, что обучение в опытной группе животных, получавших тимулин, происходило значительно быстрее, чем в контроле, на протяжении всего опыта (**рис. 1**), а на фоне полипептидов селезенки – только во 2-й и 4-й дни эксперимента. Следует отметить, что гормон тимуса ускоряет формирование реакции избегания с первого опытного дня.

Наблюдая за животными при формировании УРАИ, мы обратили внимание, что на фоне гормона тимуса животные в межсигнальном периоде предпочитали находиться возле отверстия или в центре камеры, у них при этом наблюдалась исследовательская активность (стойки, обнюхивание краев отверстия). Животные контрольной группы и под влиянием полипептидов селезенки находились почти неподвижно в углах камеры, далеко от отверстия.

Результаты обучения животных после проведения ложной операции, приведенные на **рис. 2**, показали, что проведение ложной операции не повлияло на уровень выработки УРАИ. Отметим, что эти результаты аналогичны данным, приведенным на **рис. 1**, в частности, статистически значимое увеличение реакций избегания при ложной операции отмечено в те же дни, что и у неоперированных животных.

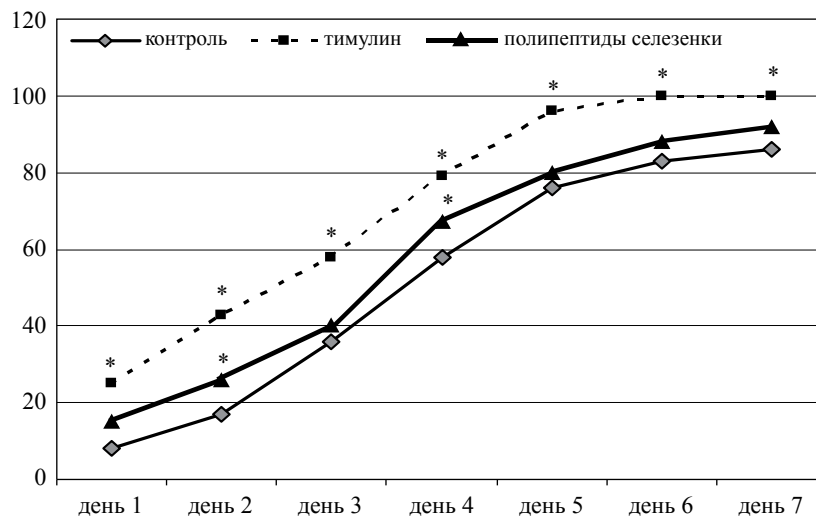


Рис. 1. Динамика формирования условного рефлекса активного избегания у животных без тимэктомии. По оси абсцисс — дни выработки условного рефлекса. По оси ординат — число условных реакций активного избегания, % от числа предъявлений. * $p < 0,05$ относительно контроля.

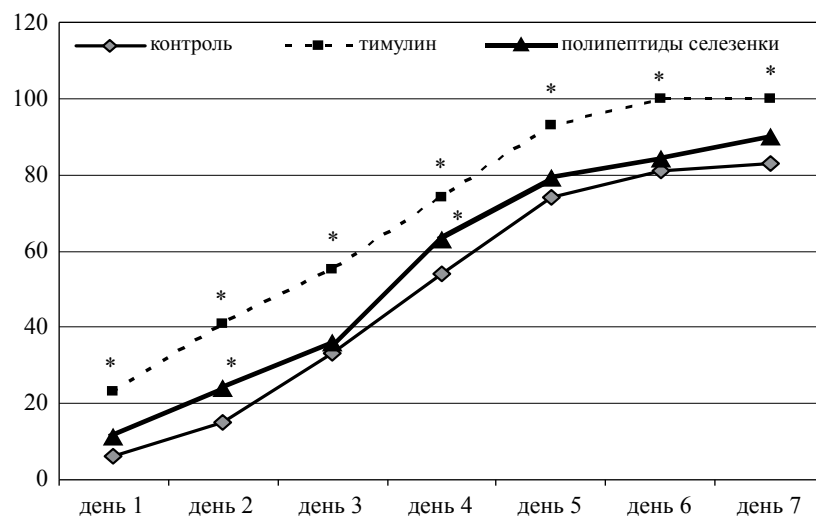


Рис. 2. Динамика формирования условного рефлекса активного избегания у животных через 6 месяцев после ложной операции. По оси абсцисс — дни выработки условного рефлекса. По оси ординат — число условных реакций активного избегания, % от числа предъявлений. * $p < 0,05$ относительно контроля.

В третьей серии опытов после удаления тимуса все животные выжили, и через 6 месяцев после операции у них вырабатывали УРАИ. Тимэктомия у контрольных животных и на фоне полипептидов селезенки привела к нарушению процесса обучения после операции. У крыс этих групп не удалось выработать УРАИ, что совпадает с данными других исследователей, полученных на других моделях [9–10]. Введение тимулина

привело к тому, что животные достигли критерия обученности — 80% реакций избегания (рис. 3). Полученные результаты доказывают, что введение тимулина стимулирует улучшение процессов обучения и памяти, нарушенных тимэктомией.

Основным результатом данного исследования является установление способности гормона тимуса тимулина устранять нарушения обучения и памяти у тимэктомированных животных.

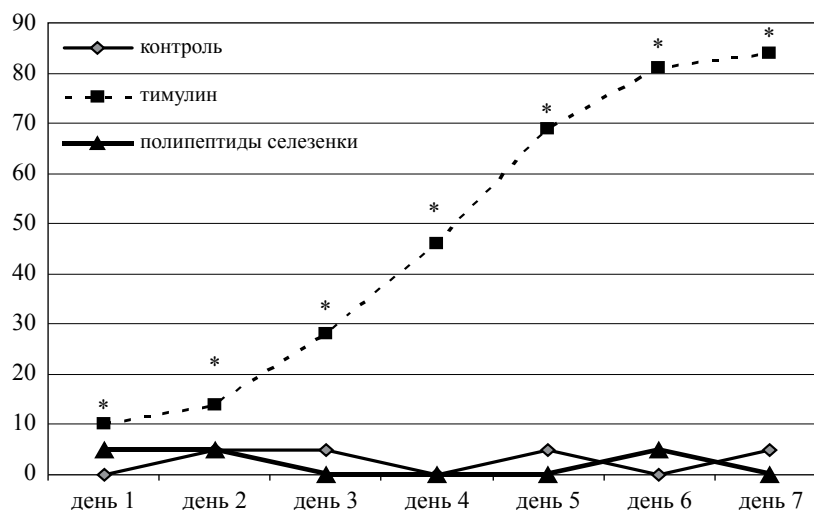


Рис. 3. Динамика формирования условного рефлекса активного избегания у животных через 6 месяцев после тимэктомии. По оси абсцисс – дни выработки условного рефлекса.

По оси ординат – число условных реакций активного избегания, % от числа предъявлений.

* $p < 0,05$ относительно контроля.

Результаты, полученные на фоне гормона тимуса тимулина через 6 месяцев после тимэктомии соответствуют результатам, полученным ранее при исследовании влияния препарата полипептидов тимуса тактивина на обучение и память крыс через 1 месяц после тимэктомии [11]. Объяснение такого положительного влияния гормона и препарата пептидов тимуса может быть получено на основе следующих фактов. Известно, что снижение иммунного ответа вследствие тимэктомии ухудшает способность к обучению и памяти [9, 12] и приводит к снижению концентрации норадреналина в коре миндалин, гипоталамусе, стриатуме и обонятельных луковицах. Концентрация дофамина после тимэктомии снижается в обонятельных луковицах, а концентрация 5-гидрокситриптамина – во фронтальной коре [13]. Из приведенных данных следует, что нарушение обучения и памяти у тимэктомизированных животных сопряжено с изменениями уровня моноаминов в мозге крыс. Можно ожидать, что преодоление указанных нарушений обучения и памяти у тимэктомизированных животных может быть основано на восстановлении данных нейрохимических показателей. Нами ранее установлено, что у животных без тимэктомии ускорение выработки УРАИ на фоне тактивина сопровождается достоверным увеличением уровня норадреналина во фронтальной коре, гипоталамусе и стриатуме; дофамина – в гипоталамусе; серотонина – во фронтальной коре, миндалине и стриатуме [14]. Из этого следует, что данные нейрохимические изменения имеют противоположную направленность

относительно изменений, описанных у тимэктомизированных животных [13]. Мы предполагаем, что механизм действия тимулина и тактивина схожи, а введение гормона тимуса или препарата полипептидов тимуса животным после тимэктомии способствует преодолению нарушения уровня моноаминов, вызываемых тимэктомией.

Совокупность полученных данных позволяет заключить, что тимус выполняет важную роль не только в регуляции иммунных процессов, но совместно с известными структурами центральной нервной системы принимает участие в процессах обучения и памяти. Таким образом, нарушение когнитивных функций, вызванное тимэктомией, может быть восстановлено с помощью гормона и пептидов тимуса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ/REFERENCES

1. Пальцев М.А., Кветной И.М. Руководство по нейроиммуноэндокринологии. Медицина, Москва 2008, 512 с. [Paltsev M.A., Kvetnoy I.M. Guide of neuroimmunoendokrinology. Moscow, "Medicine", 2008, 512 p.]
2. Сепиашвили Р.И. Физиология иммунной системы. Медицина – Здоровье, Москва 2015, 328 с. [Sepiashvili R.I. Physiology of the immune system. Medicine – Health, Moscow 2015, 328 p.]
3. Архипов В.И. Дискуссионные вопросы в современных исследованиях механизмов памяти. Ж. высш. нервн. деят. 2004, 54, 1, 5–10. [Arkhipov V.I. Discussion issues in modern studies of memory mechanisms. J. Higher. Nervous. Dejat. 2004, 54, 1, 5–10.]

4. *Chen S.H., Desmond J.F.* Temporal dynamics of cerebro-cerebellar network recruitment during a cognitive task. *J. Neuropsychologia* 2005, 43, 9, 1227–1237.
5. *Hoffman K.L., McNaughton B.L.* Coordinated reactivation of distributed memory traces in primate neocortex. *J. Science* 2002, 297, 5589, 2070–2073.
6. *Mizuno K., Giese K.P.* Hippocampus-Dependent Memory Formation: do Memory Type-Specific Mechanisms Exist? *J. Pharmacol. Sci.* 2005, 98, 191–197.
7. *Morgado I.* The psychobiology of learning and memory: fundamentals and recent advances. *J. Rev. Neurol.* 2005, 40, 5, 289–297.
8. *Новоселецкая А.В., Киселева М.В., Иноземцев А.Н., Белова О.В., Зими́на И.В., Арион В.Я.* Мнемотропные свойства иммунокорректирующего препарата тимуса тактивина. *Аллергол. и иммунол.* 2011, 12, 3, 255–257. [*Novoseletskaya A.V., Kiseleva M.V., Inozemtsev A.N., Belova O.V., Zimina I.V., Arion V. Ya.* Mnemotropic properties of the immunocorrective thymus thactivine preparation. *Allergol. and immunol.* 2011, 12, 3, 255–257.]
9. *Saito H., Nishiyama N., Zhang Y., Abe Y.* Learning disorders in thymectomized mice: a new screening model for cognitive enhancer. *Behav Brain Res.* 1997, 83, 2, 63–69.
10. *Zhang Y., Saito H., Nishiyama N.* Thymectomy-induced deterioration of learning and memory in mice. *Brain Res.* 1994, 658, 1, 127–134.
11. *Новоселецкая А.В., Киселева Н.М., Зими́на И.В., Быстрова О.В., Белова О.В., Иноземцев А.Н., Арион В.Я., Сергиенко В.И.* Препарат полипептидов тимуса тактивин восстанавливает обучение и память у тимэктомированных крыс. *Бюлл. эксп. биол. и медицины* 2015, 159, 5, 580–583. [*Novoseletskaya A.V., Kiseleva N.M., Zimina I.V., Bystrova O.V., Belova O.V., Inozemtsev A.N., Arion V. Ya., Sergienko V.I.* The preparation of thymus polypeptides of tactivin restores learning and memory in thymectomized rats. *Bull. Exp. Biol. and medicine* 2015, 159, 5, 580–583.]
12. *Nishiyama N.* Thymectomy-induced deterioration of learning and memory. *Cell Mol. Biol.* 2001, 47, 1, 161–165.
13. *Song C., Earley B., Leonard B.E.* Effect of chronic treatment with piracetam and tacrine on some changes caused by thymectomy in the rat brain. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1997, 56, 4, 697–704.
14. *Киселева Н.М., Новоселецкая А.В., Иноземцев А.Н., Кудрин В.С., Клодт П.М., Наркевич В.Б., Зими́на И.В., Арион В.Я.* Нейрохимическое изучение механизма действия полипептидного препарата тимуса (тактивина) при эмоциональном стрессе. *Вестник РУДН, серия Медицина.* 2011, 4, 143–148. [*Kiseleva N.M., Novoseletskaya A.V., Inozemtsev A.N., Kudrin V.S., Klodt P.M., Narkevich V.B., Zimina I.V., Arion V. Ya.* Neurochemical study of the mechanism of action of the polypeptide drug thymus (tactivin) with emotional stress. *Vestn. RUDN, Medicine.* 2011, 4, 143–148.]

EFFECT OF THYMIC HORMONE THYMULINE TO RESTORE LEARNING AND MEMORY IN THYMECTOMIED ANIMALS

A.V. Novoseletskaya*, N.M. Kiseleva, A.N. Inozemtsev***

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


***The Russian National Research Medical University named after N. I. Pirogov, Department of Pharmacology, Moscow, Russia*

Received: 09.08.2016. **Accepted:** 22.11.2016

Effects of thymus hormone thymulin and spleen polypeptides on learning and memory in thymectomized rats has been studied. It has been shown that thymectomy in a three-week rats eliminated the ability of avoidance learning. In a 6 months after the operation, thymulin in the dose of 0.15 mg/kg, unlike polypeptides spleen, restored the ability to learn.

Key words: thymus, thymulin, thymectomized, learning and memory

Authors:

Novoseletskaya A. V.  Ph.D., Senior Researcher of the Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Department of Higher Nervous Activity, Moscow, Russia; 119234 Russia, Moscow, Lenin Hills, etc. 1, page 12, Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Department of Higher Nervous Activity

Tel. 8(495)939-50-01. **E-mail:** anna.novoseletskaya@gmail.com

Kiseleva N. M., Doctor of Biological Sciences, Professor, Russian National Research Medical University named after N. I. Pirogov, Department of Pharmacology, Moscow, Russia;

Inozemtsev A. N., Doctor of Biological Sciences, Leading Researcher Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology, Department of Higher Nervous Activity, Moscow, Russia.