

---

## НЕЙРОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМА ДЕЙСТВИЯ ПОЛИПЕПТИДНОГО ПРЕПАРАТА ТИМУСА (ТАКТИВИНА) ПРИ ЭМОЦИОНАЛЬНОМ СТРЕССЕ

**Н.М. Киселева**

Кафедра фармакологии ГОУ ВПО  
Российский государственный медицинский университет Росздрава  
*ул. Островитянова, 1, Москва, Россия, 117997*

**А.В. Новоселецкая, А.Н. Иноземцев**

Кафедра высшей нервной деятельности  
Биологический факультет  
МГУ имени М.В.Ломоносова  
*Ленинские горы, 1, стр. 12, Москва, Россия, 119991*

**В.С. Кудрин, П.М. Клодт, В.Б. Наркевич**

Лаборатория нейрохимической фармакологии  
ФГУ НИИ Фармакологии им. В.В. Закусова РАМН  
*ул. Балтийская, 8, Москва, Россия, 125315*

**И.В. Зими́на, В.Я. Арион**

Лаборатория молекулярной иммунологии и биохимии  
ФГУ «НИИ физико-химической медицины» ФМБА России  
*ул. Малая Пироговская, 1а, Москва, Россия, 119992*

Проведено сравнительное изучение влияния тактивина на содержание моноаминов и их метаболитов в фронтальной коре, стриатуме, прилежащем ядре, гипоталамусе, гиппокампе и мозге крыс Wistar с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии. Показано, что препарат ослабляет эмоциональное напряжение при функциональном нарушении реакции избегания и улучшает адаптацию в стрессогенных условиях у крыс, что может свидетельствовать об анти-стрессорном действии тактивина. Положительное действие полипептидов тимуса проявилось в изменении баланса серотонин/норадреналин в пользу первого в гипоталамусе и фронтальной коре.

**Ключевые слова:** тактивин, серотонин, норадреналин, стресс, фронтальная кора, гипоталамус.

В настоящее время широко обсуждается вопрос тесного взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем [2, 5]. Не подлежит сомнению факт выраженного воздействия нервной системы, осуществляемого на функционирование иммунной, однако вопрос о воздействии иммунной системы на нервную остается до сих пор слабо изученным. Так, в работах W. Piergali и сотрудников (1977) показано, что под влиянием тимуса в эмбриогенезе происходит дифференцировка нейроэндокринных центров гипоталамуса. D. Healey и коллеги еще в 1983 году доказали, что секретируемые тимусом опиоидные пептиды и различные фракции тимозина стимулируют синтез некоторых рилизинг-факторов, вызывающих, в свою очередь, повышение секреции гонадотропных гормонов и пролактина. В 1985 году в работах ряда авторов (H.O. Besedovsky, M.M. Frank, Th. Roszman) говорится о том, что тимические факторы, в частности,  $\alpha_1$ - и  $\beta_4$ -тимозины, способны передавать специфические сигналы нейронам; также были получены доказательства общности пептидной регуляции нейронов и иммунокомпетентных клеток (Th. Roszman, J.B. Blalock). При этом предполагается сходство регуляции

лимфокинов пептидными гормонами с процессами, происходящими в нейронах. Эти факты позволили предположить, что иммуностропные препараты, выделенные из тимуса, в частности, тактивин, могут обладать и нейротропной активностью.

Иммуностропный препарат полипептидов тимуса тактивин находит широкое применение в клинике при комплексной терапии рассеянного склероза, алкоголизма и наркомании [1]. Предполагается, что в механизме взаимодействия иммунной и центральной нервной системы могут принимать участие моноаминергические системы мозга. Вопрос о влиянии тактивина на параметры моноаминергической нейротрансмиссии в мозге остается неизученным. В частности, отсутствуют сведения о влиянии препарата на биосинтез, кругооборот и метаболизм моноаминов и их метаболитов в различных структурах головного мозга. В связи с этим целью данной работы было изучение возможного влияния тактивина на содержание норадреналина (НА), дофамина (ДА), серотонина (5-ОТ), а также метаболитов последних 3,4-диоксифенилуксусной (ДОФУК), гомованилиновой (ГВК) и 5-оксииндолуксусной кислот (5-ОИУК) в структурах головного мозга крыс с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимической детекцией (ВЭЖХ/ЭД).

**Материалы и методы.** Работа выполнена на 40 самцах крыс линии Wistar массой 200—230 г (20 контрольных и 20 опытных). Крысы содержались в пластиковых клетках при постоянной температуре (+21—+22 °С) при 12-часовом световом дне и имели неограниченный доступ к воде и пище. Опытным животным вводили препарат тимуса тактивин, полученный в лаборатории молекулярной иммунологии и биохимии ФГУ «НИИ ФХМ» ФМБА РФ; контрольным животным вводили физиологический раствор.

До начала формирования условной реакции активного избегания (УРАИ) опытная группа животных получала 0,5 мг/кг тактивина, контрольная — 0,5 мл физиологического раствора. Препарат и физиологический раствор вводили внутривентрикулярно один раз в сутки в течение 5 дней. Когда число реакций избегания достигало 80%, проводили функциональное нарушение УРАИ, основанное на нарушении причинно-следственных отношений в экспериментальной среде — сбой.

Во избежание влияния суточных биоритмов на скорость биосинтеза и метаболизма нейромедиаторов эксперименты проводили между 10 и 12 часами дня. Опыты выполнены в соответствии с этическими требованиями, предъявляемыми к работе с лабораторными животными. Декапитация животных осуществлялась через 1 ч после последней инъекции тактивина. На льду быстро извлекали мозг и выделяли фронтальную кору, гипоталамус, прилежащее ядро, стриатум и гиппокамп. Структуры замораживались в жидком азоте, взвешивались на торсионных весах и до хроматографических исследований хранились в жидком азоте. Выделенные структуры размельчали для последующих биохимических экспериментов при +4 °С в гомогенизаторе «стекло-тефлон» с помощью пестика (Зазор = 0,2 мм) при скорости вращения 3000 об/мин. В качестве среды выделения использовали 0,1 н  $\text{HClO}_4$  с добавлением внутреннего стандарта ДОБА (диоксибензиламин, вещество катехоламиновой природы, но не встречающееся в нативной ткани) в концентрации 0,5 нмоль/мл. Прилежащее ядро гомогенизировали в 0,5 мл, остальные структуры мозга — в 1,0 мл среды выделения. Пробы центрифугировали при

10 000 г в течение 15 мин. (4 °С). Супернатант использовался в тот же день для хроматографического определения моноаминов и их метаболитов. Содержание моноаминов и их метаболитов определялось с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ионпарная хроматография) с электрохимической детекцией (ВЭЖХ/ЭД) [4]. Для калибровки хроматографа использовались смеси рабочих стандартов определяемых веществ в концентрации 500 пмоль/мл. Данные нейрохимических экспериментов обрабатывали с помощью программы Excel, сравнивали между собой, используя *t*-критерий Стьюдента

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили стандартными методами с применением программы Statistika 6.0, используя метод непараметрической статистики U-критерий Манна—Уитни. В табл. 1 звездочками обозначены достоверные различия ( $p < 0,05$ ). Результаты представлены в виде « $m \pm S.E.M$ ».

**Результаты исследований и их обсуждение.** Результаты исследования представлены в табл. 1 и 2. Как видно из полученных данных, у интактных животных (табл. 1 — до сбоя) под влиянием тактивина в гиппокампе — структуре, наиболее богатой норадренергическими терминалями [7, 8] — отмечали статистически достоверное увеличение содержания НА (на 33,6%). Содержание другого нейромедиатора — ДА заметно снижалось в коре головного мозга, вследствие чего происходило увеличение величины комплексных показателей ДОФУК/ДА, ГВК/ДА, характеризующих скорость метаболизма ДА. В то же время следует отметить, что содержание последнего в указанной структуре незначительно. В стриатуме наблюдалось достоверное увеличение уровня ДА.

Таблица 1

**Влияние тактивина на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс до сбоя реакции избегания**

Показатель	НА	ДА	ДОФУК	ГВК	ДОФУК /ДА	ГВК /ДА	5-ОТ	5-ГИУК	5-ГИУК /5-ОТ
Фронтальная кора									
Контроль	100 ± ± 6,0	100 ± ± 15,1	100 ± ± 4,7	100 ± ± 9,9	100 ± ± 18,2	100 ± ± 9,1	100 ± ± 11,3	100 ± ± 7,2	100 ± ± 6,4
Тактивин	92,9 ± ± 4,1	62,3 ± ± 7,3*	99,4 ± ± 8,9	106,5 ± ± 4,6	159,1 ± ± 9,5*	148,7 ± ± 5,3*	88 ± ± 8,1	91,3 ± ± 7,7	100,7 ± ± 4,4
Гипоталамус									
Контроль	100 ± ± 14,0	100 ± ± 15,3	100 ± ± 5,8	100 ± ± 21,9	100 ± ± 4,4	100 ± ± 12,9	100 ± ± 4,9	100 ± ± 2,6	100 ± ± 8,8
Тактивин	95,3 ± ± 3,1	85,9 ± ± 8,7	90,1 ± ± 10,2	73,9 ± ± 10,3	101,8 ± ± 5,1	80,2 ± ± 16,7	96,8 ± ± 7,6	105,8 ± ± 6,9	107,5 ± ± 7,7
Гиппокамп									
Контроль	100 ± ± 5,6	100 ± ± 8,7	100 ± ± 11,7	100 ± ± 9,9	100 ± ± 13,3	100 ± ± 17,1	100 ± ± 6,2	100 ± ± 4,4	100 ± ± 7,8
Тактивин	133,6 ± ± 9,7*	96,8 ± ± 6,5	81,9 ± ± 10,1	113,3 ± ± 5,9	87,8 ± ± 11,5	135,6 ± ± 20,4	97,5 ± ± 5,7	100,6 ± ± 3,1	103,9 ± ± 4,8
Прилежащее ядро									
Контроль	100 ± ± 20,6	100 ± ± 14,8	100 ± ± 18,0	100 ± ± 8,9	100 ± ± 15,2	100 ± ± 7,1	100 ± ± 8,3	100 ± ± 6,8	100 ± ± 12,4
Тактивин	160,9 ± ± 38,4	86,9 ± ± 12,6	114,1 ± ± 10,3	95,2 ± ± 4,6	125,4 ± ± 18,6	102,9 ± ± 7,3	90,4 ± ± 7,5	98,3 ± ± 5,8	108,1 ± ± 8,9

Окончание

Показатель	НА	ДА	ДОФУК	ГВК	ДОФУК /ДА	ГВК /ДА	5-ОТ	5-ГИУК	5-ГИУК /5-ОТ
Стриатум									
Контроль	100 ± ± 12,0	100 ± ± 6,4	100 ± ± 6,8	100 ± ± 7,5	100 ± ± 4,5	100 ± ± 3,1	100 ± ± 11,3	100 ± ± 15,6	100 ± ± 1,7
Тактивин	91,1 ± ± 9,1	112,5 ± ± 1,3*	109,9 ± ± 5,3	114 ± ± 8,9	96,8 ± ± 7,5	100,8 ± ± 3,5	123,7 ± ± 16,6	125,2 ± ± 17,8	100,3 ± ± 3,2

Примечание: приведены средние значения и стандартные ошибки среднего «m ± S.E.M». \* —  $p < 0,05$  в сравнении с контролем (U-критерий Манна—Уитни).

Как свидетельствуют результаты поведенческих экспериментов, сбой на фоне тактивина не происходило. Эти данные согласуются с изменениями баланса моноаминов, наблюдающимися в различных структурах мозга. У крыс опытной группы под влиянием иммуномодулятора увеличивалось содержание 5-ОТ в стриатуме, гипоталамусе и во фронтальной коре (табл. 2). Поскольку полипептиды тима не вызывали указанных изменений у интактных крыс (без обучения и сбоя), то можно предположить, что наблюдаемые изменения в содержании моноаминов, метаболитов и их соотношения с соответствующими моноаминами можно объяснить сбоем реакции избегания. Увеличение уровня 5-ОТ под воздействием тактивина можно рассматривать как вариант адаптации к стресс-воздействию. В то же время проявление стрессовых реакций при сбое у контрольных животных, несмотря на увеличение содержания 5-ОТ, указывает либо на недостаточность его стресс-протекторного действия при данной модели стресса, либо связано с вовлечением иных нейротрансмиттерных систем в ответную реакцию организма.

Таблица 2

**Влияние тактивина на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга крыс после сбоя реакции избегания**

Показатель	НА	ДА	ДОФУК	ГВК	ДОФУК /ДА	ГВК /ДА	5-ОТ	5-ГИУК	5-ГИУК /5-ОТ
Фронтальная кора									
Контроль	100 ± ± 4,0	100 ± ± 24,4	100 ± ± 15,0	100 ± ± 19,9	100 ± ± 20,2	100 ± ± 12,1	100 ± ± 5,3	100 ± ± 46	100 ± ± 9,4
Тактивин	151,3 ± ± 3,4#*	62,5 ± ± 26,8^	137,2 ± ± 18,7	146,3 ± ± 26,4	214,3 ± ± 16,7#*	238,9 ± ± 9,6#*	137,5 ± ± 8,6*	289,9 ± ± 17,1#*	215,2 ± ± 13,8#*
Гипоталамус									
Контроль	100 ± ± 2,0	100 ± ± 4,4	100 ± ± 3,6	100 ± ± 13,4	100 ± ± 11,2	100 ± ± 18,1	100 ± ± 4,1	100 ± ± 7,3	100 ± ± 7,1
Тактивин	115,8 ± ± 4,0*	122,6 ± ± 5,0*	103,2 ± ± 6,7#	108,1 ± ± 9,4	79,1 ± ± 0,9#*	89,3 ± ± 9,8#	167,1 ± ± 5,7*	95,9 ± ± 9,8#	93,5 ± ± 10,6#
Гиппокамп									
Контроль	100 ± ± 7,0	100 ± ± 8,4	100 ± ± 11,0	100 ± ± 8,9	100 ± ± 13,4	100 ± ± 11,1	100 ± ± 5,9	100 ± ± 3,9	100 ± ± 17,4
Тактивин	102,2 ± ± 5,6	25,1 ± ± 3,7**	91,4 ± ± 7,9#	107,9 ± ± 7,1	196,5 ± ± 6,8*	18,5 ± ± 6,2^*	109,4 ± ± 14,1	88,4 ± ± 3,4#*	193,6 ± ± 4,5#*
Прилежащее ядро									
Контроль	100 ± ± 4,9	100 ± ± 7,5	100 ± ± 15,4	100 ± ± 18,1	100 ± ± 21,4	100 ± ± 8,7	100 ± ± 11,3	100 ± ± 4,5	100 ± ± 8,8

Окончание

Показатель	НА	ДА	ДОФУК	ГВК	ДОФУК /ДА	ГВК /ДА	5-ОТ	5-ГИУК	5-ГИУК /5-ОТ
Тактивин	96,6 ± ± 8,2#	102,1 ± ± 3,5	236,4 ± ± 18,7#*	91,9 ± ± 17,4	257,7 ± ± 13,7#*	95,3 ± ± 6,8#	112,6 ± ± 9,3	102,6 ± ± 5,7#	26,9 ± ± 4,5#*
Стриатум									
Контроль	100 ± ± 4,5	100 ± ± 8,0	100 ± ± 4,5	100 ± ± 8,9	100 ± ± 11,7	100 ± ± 19,9	100 ± ± 8,3	100 ± ± 15,4	100 ± ± 4,6
Тактивин	158,6 ± ± 6,8#*	99,9 ± ± 3,7^	103,6 ± ± 2,5	90,8 ± ± 8,3^	111,7 ± ± 10,6	82,1 ± ± 12,9	143,6 ± ± 6,6*	229,4 ± ± 8,0#*	96,7 ± ± 5,1#

Примечание: приведены средние значения и стандартные ошибки среднего « $m \pm S.E.M$ »; \* —  $p < 0,05$  в сравнении с контролем (U-критерий Манна—Уитни); # — увеличение концентрации в сравнении с полученной до обучения и сбоя ( $p < 0,05$ ); ^ — уменьшение концентрации в сравнении с полученной до обучения и сбоя ( $p < 0,05$ ).

На фоне тактивина увеличение уровня ДА отмечалось только в гипоталамусе. При этом наблюдалось уменьшение величины соотношений ГВК/ДА в гиппокампе, ДОФУК/ДА в гипоталамусе и увеличение соотношения ДОФУК/ДА в гиппокампе. Помимо увеличения 5-ОТ отмечалось повышение содержания НА в гипоталамусе и фронтальной коре.

После сбоя на фоне тактивина наблюдалось увеличение уровня НА в гипоталамусе и фронтальной коре. Как известно [7], снижение уровня НА (по крайней мере, в гипоталамусе) является наиболее характерным признаком эмоционального стресса. Торможение серотонинергических нейронов опосредуется норадренергическими терминалями [8], и поэтому увеличение активности НА снижает активность серотонинергической системы, что ведет к уменьшению стресспротекторного эффекта в условиях данной модели [3].

При обсуждении полученных результатов следует отметить, что данные этой серии экспериментов подтверждают наши предположения о том, что в механизме действия тактивина определенную роль играют моноаминергические системы мозга. Об этом свидетельствуют наблюдаемые изменения параметров содержания и метаболизма нейромедиаторов как норадренергической, так и серотонинергической систем мозга.

Таким образом, можно предположить, что тактивин изменяет соотношение 5-ОТ/НА в пользу первого. Учитывая, что увеличение содержания 5-ОТ носит характер компенсаторной реакции на стресс, а уменьшение концентрации НА связано с проявлениями страха [6, 7], можно предполагать, что такое изменение лежит в основе отмеченного нами позитивного действия тактивина при сбое УРАИ.

## ЛИТЕРАТУРА

- [1] Арион В.Я., Зимина И.В., Москвина С.Н. и др. Тактивин — природный иммунокорректор. Клиническое применение // Иммунопатология, аллергология, инфектология. — 2007. — № 4. — С. 11 — 26.
- [2] Крыжановский Г.Н., Магаева С.В., Макаров С.В. и др. Нейроиммунопатология. Руководство. — М.: Изд-во НИИ общей патологии и патофизиологии, 2003. — 438 с.
- [3] Литвинова С.В., Калужный А.Л., Иноземцев А.Н. и др. Влияние пираретама на взаимодействие моноаминергических и эндогенной опиоидной систем мозга у крыс, различающихся по чувствительности к действию морфина // Эксперим. наркологи. — 2007. — № 3. — С. 12 — 20.

- [4] *Мирошниченко И.И., Кудрин В.С., Раевский К.С.*, Влияние карбидина, сульпирида и галоперидола на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах головного мозга крыс // *Фармакол. Токсикол.* — 1988 — Т. 51. — № 2. — С. 26 — 29.
- [5] *Пальцев М.А., Кветной И.М.* Руководство по нейроиммуноэндокринологии. 2-е изд. — М.: Медицина, 2008. — 512 с.
- [6] *Судаков К.В.* Механизмы «застойных» изменений в лимбико-ретикулярных структурах мозга при эмоциональном стрессе // *Психоэмоциональный стресс.* — М.: Научн. совет по эксперим. и прикладной физиологии РАМН, 1992. — С. 7—26.
- [7] *Юматов Е.А.* Системный подход как концептуальная основа исследования эмоциональных стрессов // *Вестн. АМН СССР.* — 1982. — № 2. — С. 63—69.
- [8] *Varaban J.M., Aghajanian G.K.* Noradrenergic innervation of serotonergic neurons in the dorsal raphe: demonstration by electron microscopic autoradiography // *Brain Res.* — 1981. — V. 204. — P. 1—11.

## THE MECHANISM OF ACTION OF THYMUS-DERIVED POLYPEPTIDE (T-ACTIVIN) IN EXPERIMENTAL EMOTIONAL STRESS MODEL: A NEUROCHEMICAL STUDY

**N.M. Kiseleva**

Pharmacology Department  
Russian State Medical University  
*Ostrovyanova str., 1, Moscow, Russia, 117997*

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

Department of the higher nervous activity  
Biological faculty  
Moscow State University n.a. M.V. Lomonosov  
*Lenin Hills, 1-12, Moscow, Russia, 119991*

**V.S. Kudrin, P.M. Klodt, V.B. Narkevich**

Laboratory of Neurochemical Pharmacology  
State Institute of Pharmacology n.a. V.V. Zakusov  
of Russian Academy of Medical Sciences  
*Baltiiskaya str., 8, Moscow, Russia, 125315*

**I.V. Zimina, V.Ya. Arion**

Laboratory of molecular immunology and biochemistry  
FPI “Scientific Research Institute for Physical-Chemical Medicine” FMBA  
*Malaya Pirogovskaya str., 1a, Moscow, Russia, 119435*

The effects of T-activin, the thymus-derived polypeptide, on the content level of monoamines and their metabolites in frontal cerebral cortex, striatum, hypothalamus, nucleus accumbens and hippocampus of rats under emotional stress conditions using HPLC technique have been studied. The substance was shown to reduce the indices of emotional tension and to improve adaptation in stressful conditions at rats that may be the evidence of the anxiolytic action of T-activin. It may be suggested that the positive influence of the thymus polypeptide manifested on the serotonin/norepinephrine balance in favor of the first in hypothalamus and frontal cerebral cortex.

**Key words:** T-activin, serotonin, norepinephrine, stress, frontal cortex, hypothalamus.