

Изменения концентрации нейроспецифического белка NCAM во фронтальной зоне неокортекса при выработке условного активно-оборонительного навыка

А. Л. Дроздов, Л. А. Дзяк, В. И. Черная¹

Днепропетровская государственная медицинская академия Минздрава Украины
Ул. Дзержинского, 9, Днепропетровск, 49044, Украина

¹ Днепропетровский национальный университет
Пер. Научный, 13, Днепропетровск, 49050, Украина

Представлены данные об изменении содержания молекулы клеточной адгезии (NCAM) во фронтальной зоне неокортекса головного мозга крыс, у которых сформирован навык условного активно-оборонительного поведения. Показано достоверное повышение концентрации NCAM на 3, 7, 14, 21 и 30-е сут после обучения, что свидетельствует об участии NCAM в пластической перестройке нейрональных сетей, связанных с обучением и памятью.

Введение. Нейрональная молекула клеточной адгезии (NCAM) является первым из идентифицированных гликопротеинов [1], обеспечивающих клеточную адгезию при взаимодействиях типа нейрон—нейрон или нейрон—матрикс [2]. Установление адгезивных контактов между нервными клетками необходимо для нормального развития и функционирования центральной нервной системы (ЦНС) [3].

В настоящее время основной функцией NCAM является обеспечение объединения клеток в пределах ткани как за счет молекул, свободно расположенных по всей поверхности плазматической мембраны, так и локализуемых, в основном, в зонах синаптических контактов [4]. У взрослых животных большие концентрации NCAM обнаруживаются в пре- и постсинаптических мембранах нейронов, что, по мнению исследователей [1], отражает участие белка в синаптических модификациях, вызываемых нейрональной импульсной активностью. Установлено, что в основе обучения лежат процессы, связанные с ростом и увеличением синапсов, а также с участием в ассоциативном про-

цессе различных синаптических и мембранных механизмов пластичности [5]. Совокупность изменений в ЦНС, обусловленных фиксацией следа памяти, принято называть энграммой, и один из главных вопросов, интересующих исследователей в этой области, заключается в том, чтобы идентифицировать и обнаружить локализацию энграммы в мозге [6].

Недостаточно исследованными являются изменения содержания молекулы адгезии нервных клеток при реализации интегративных функций головного мозга, в частности, при формировании энграмм памяти. В процессы формирования, хранения и извлечения памятного следа вовлекаются различные мозговые образования [7], включая фронтальную зону неокортекса, гиппокамп, мезенцефалическую ретикулярную формацию и др.

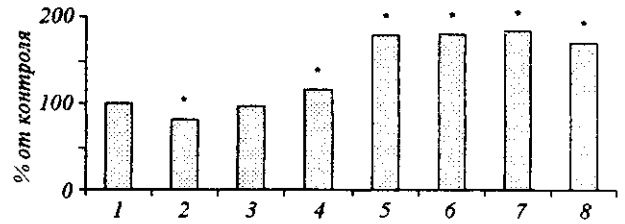
В соответствии с этой целью настоящей работы являлось выявление изменений концентрации NCAM во фронтальной зоне коры больших полушарий мозга крыс в процессе формирования энграмм условно-рефлекторной памяти.

Материалы и методы. Исследования проведены на 79 половозрелых крысах линии Вистар массой 180—230 г. Для оценки изменения экспрессии

нейроспецифического белка в процессе формирования энграмм памяти нами в качестве модели мнестических реакций выбрана условная реакция активного избегания (УРАИ) [8]. Выбор данного вида условной реакции обусловлен возможностью тестирования состояния процессов формирования энграмм памяти в ходе каждого дня обучения. Условная активно-оборонительная реакция вырабатывалась в Y-образном лабиринте. Крысу помещали на стартовую площадку ствола лабиринта, а в одном из двух рукавов зажигали свет. Через 5 с после подачи условного светового сигнала на электрифицированный пол лабиринта подавали электрический ток, равный по интенсивности болевому порогу животного, избавиться от которого можно, только победив в освещенный рукав лабиринта. Животных обучали по 6 сеансов (сессий) из 10 сочетаний условного и безусловного раздражителей в неделю до достижения критерия обученности не менее 95 % победок в освещенный отсек, совершаемых до подачи ноцицептивного раздражителя. В процессе одной сессии обучения крысы получили по 10 сочетаний условного и болевого раздражителей. В ходе эксперимента регистрировали: долю ошибочных реакций (% ошибок), число победок в освещенный отсек до подачи болевого раздражителя (% УРАИ), часть перемещений в светлый рукав после подачи электротока (% условных реакций активного избегания), полное время перемещения в освещенный отсек. Время перемещения до источника света у крыс, обладавших реакцией активного избегания (латентный период УРАИ), и период перебега в освещенный отсек после подачи болевого раздражителя (латентный период условных реакций активного избегания) учитывали отдельно. Сдвиги исследуемого параметра определяли через 2 ч после окончания сессии обучения. Эксперименты проведены на животных после 1, 2, 3, 7, 14, 21 и 30 сессий обучения, т. е. через 2, 24 ч и 3, 7, 14, 21, 30 сут после начала выработки УРАИ.

Концентрацию NCAM определяли в мембранной фракции фронтальной зоны неокортекса методом твердофазного иммуоферментного анализа, используя вариант ингибирования антигеном [9], и выражали в микрограммах NCAM на грамм ткани. Полученные результаты обрабатывали статистически с учетом *t*-критерия Стьюдента [10].

Результаты и обсуждение. Анализ изменений содержания NCAM во фронтальной зоне коры больших полушарий головного мозга крыс в процессе формирования УРАИ (рисунок) показал, что, начиная с 3-х сут обучения происходит достоверное повышение концентрации исследуемого нейроспе-



Концентрация NCAM во фронтальной зоне коры больших полушарий в процессе формирования условной реакции активного избегания (в скобках указано количество животных в серии): 1 — контроль (21); 2 — 2 ч (8); 3 — 24 ч (8); 4 — 3 сут (8); 5 — 7 сут (8); 6 — 14 сут (7); 7 — 21 сут (11); 8 — 30 сут (8); **p* < 0,05 по сравнению с контрольными показателями

цифического белка (*p* < 0,05) по сравнению с контролем. Это, возможно, связано с тем, что на 3-и сут значительно увеличивается доля условных реакций активного избегания от воздействия ноцицептивного раздражителя и сокращается время, необходимое для выполнения навыка. Авторами работы [3] установлена способность NCAM запускать синаптическую пластичность и созревание структуры синапса, при этом изменение экспрессии NCAM может приводить к изменению формирования и функционирования нейронных сетей.

Нами установлено, что на 7, 14, 21 и 30-е сут после выработки у крыс условного активно-оборонительного навыка в мембранной фракции неокортекса достоверно повышается концентрация NCAM на 81; 81; 86 и 73 % по сравнению с контрольными животными соответственно. Наибольший уровень NCAM (821 мкг/г ткани) выявлен на 21-е сут после обучения. В период с 7-х до 30-х сут мы наблюдали интенсификацию формирования УРАИ, проявляющуюся в постепенном сокращении латентного периода. Наблюдаемое повышение концентрации NCAM свидетельствует об увеличении адгезивности клеток в исследуемой зоне коры головного мозга в процессе обучения.

Таким образом, установленная положительная корреляция между экспрессией NCAM и процессом обучения, начиная с 3-х сут выработки УРАИ, может свидетельствовать о непосредственном участии NCAM в пластических перестройках нейронных паттернов, связанных с формированием энграммы памяти во фронтальной зоне коры больших полушарий головного мозга. Учитывая значительное содержание NCAM в зонах синаптических контактов [11] можно предположить, что этот нейроспецифический белок участвует в структур-

но-молекулярных перестройках синапсов и изменениях интенсивности синаптической передачи, модификации морфологии синапсов.

A. L. Drozdov, L. A. Dzyak, V. I. Chornaya

Changes in the NCAM concentration in the brain neocortex frontal zone under active-defend skill conditioning

Summary

The data on changes in the neural cell adhesion molecules (NCAM) concentration in the neocortex frontal zone of the rat brain under active-defend skill conditioning are presented. The elevation of NCAM level on days 3, 7, 14, 21 and 30 after training was shown. The data suggest the NCAM participation in the neural plasticity connected with learning and memorization.

О. Л. Дроздов, Л. А. Дзяк, В. И. Черна

Зміни концентрації нейроспецифічного білка NCAM у фронтальній зоні неокортексу при формуванні умовного активно-оборонного навичку

Резюме

Наведено дані щодо зміни вмісту молекули клітинної адгезії (NCAM) у фронтальній зоні неокортексу головного мозку щурів, які мали навик умовної активно-оборонної поведінки. Показано вірогідне зростання концентрації NCAM на 3, 7, 14, 21 та 30-ту доби після навчання, що свідчить про її участь у пластичних перебудовах нейрональних сіток, пов'язаних з навчанням та пам'яттю.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bock E., Jorgensen O. Rat brain synaptic vesicles and synaptic plasma membranes compared by crossed immunoelectroforesis // Brain Res.—1975.—52, N 1.—P. 37—39.
2. Fields D., Iton K. Neural cell adhesion molecules in activity-dependent development and synaptic plasticity // Trends Neurosci.—1996.—19, N 11.—P. 473—480.
3. Walsh F., Doherty P. Neural cell adhesion molecules of the immunoglobulin superfamily: Role in axon growth and guidance // Ann. Rev. Cell Develop. Biol.—1997. N 13.—P. 425—456.
4. Basic Neurochemistry / Eds J. Siegel, B. Agranoff.—New York: Lippincott Williams and Wilkins, 1999.—1184 p.
5. Конорский Ю. Интегративная деятельность мозга.—М.: Мир, 1970.—442 с.
6. Нейрохимия / Под ред. И. П. Ашмарина, П. В. Стукалова—М.: Из-во Ин-та биомед. химии РАНН, 1996.—470 с.
7. Бородин Ю. С., Крауз В. А. Фармакология краткосрочной памяти.—М.: Медицина, 1978.—232 с.
8. Кругликов Р. И. Нейрохимические механизмы обучения и памяти.—М.: Наука, 1981.—211 с.
9. Ibsen S., Berezin V., Norgaard-Pedersen B., Bock E. Enzyme-linked immunosorbent assay of D2-glycoprotein // J. Neurochem.—1983.—N 41.—P. 356—362.
10. Плохинский Н. А. Биометрия.—М.: Изд-во Моск. ун-та, 1970.—368 с.
11. Jorgensen O., Moller M. Immunocytochemical demonstration of the D2-protein in the presynaptic complex // Brain Res.—1980.—194, N 3.—P. 419—429.

УДК 517.112 + 612.812.2
Надійшла до редакції 17.07.01