

Э. Г. ЗАХАРЯН, К. Б. НАЗАРЯН

## К ИММУНОНЕЙРОФИЗИОЛОГИИ ПАМЯТИ

Исследование изменений белкового синтеза в клетках головного мозга во время обучения выявили существенную роль белков в процессах памяти. Большую роль в этом аспекте сыграло использование иммунохимических методов в этих исследованиях, в частности для выявления специфических белков мозга.

В работе рассматриваются некоторые стороны иммунологического механизма нейрональной памяти.

В последние годы при изучении деятельности мозга, особенно таких его функций как память, обучение, кроме электрофизиологических и биохимических методов применяются иммунологические приемы исследования. Это объясняется, в первую очередь, успехами современной иммунологии и использованием ее методов в самых разных областях биологии, во-вторых, высокой степенью чистоты и изящностью иммунологических методов, ибо чрезвычайная специфичность антител к соответствующим антигенам позволяет выявить самое ничтожное количество антигена в смеси веществ.

Поэтому иммунологическая техника, судя по имеющимся публикациям [18, 20], применяется для выявления в экстрактах как целого мозга, так и его различных структур органо- и видоспецифических белков с целью выяснения их функциональной и структурной роли в многообразной деятельности мозга, в частности таких его основных функций как память, обучение, поведение.

Основанием для использования иммунологических методов в исследованиях процессов памяти послужили работы, в которых показано, что усиление синтеза белка в мозговых клетках является необходимым условием для обучения и формирования долговременной памяти. Об этом говорят и исследования, в которых введение обучающимся животным ингибиторов синтеза белков и РНК нарушало формирование памяти [7, 9, 12]. Хотя подобные опыты не могли разрешить проблему памяти, однако они послужили благодатной почвой, на которой продолжалось более детальное изучение белкового синтеза при различных функциональных состояниях мозга.

Большим успехом было обнаружение органоспецифических белков нервной системы, наверное, принимающих участие в таких реакциях мозга как обучение и память [10, 20, 25, 26, 36].

Имунохимическими методами было установлено, что большинство известных в данное время специфических церебральных антигенов относится к группе кислых белков.

Пять специфических белков выявили Свиридов и Полякова [6] среди растворимых белков головного мозга взрослых крыс. Примечательным здесь является то, что в мозге новорожденных крыс среди растворимых белков не было обнаружено ни одного специфического. Они обнаруживаются лишь с 5—15 дней постнатального периода. Полагают, что специфические белки образуются по мере усложнения функций головного мозга.

Путем электрофореза на агар-агаре было обнаружено 11 антигенов, из которых пять были специфическими для мозга [18]. Другие исследования [2, 28] также свидетельствуют о том, что с помощью иммунохимических методов среди растворимых белков головного мозга можно выявить 5—6 специфических антигенов.

Таким образом, достоверное наличие в нервной системе специфических антигенов дало возможность исследовать их морфологические и функциональные свойства с помощью специфических иммунных сывороток (антисывороток). Антисыворотки к мозговой ткани получают иммунизацией животных, в основном кроликов, антигенами, полученными из целого мозга или его отдельных структур. Так в качестве антигена использовались гомогенаты целого мозга, кора большого мозга, мозжечок, гиппокамп, хвостатое ядро и другие образования мозга [3, 6, 16, 23, 31].

Способы получения и приготовления антигенов для иммунизации крайне разнообразны, и в каждом отдельном случае экспериментатор подбирает в зависимости от поставленной перед собой задачи ту или иную методику. Правильный выбор методики приготовления антигена имеет очень важное значение в иммунонейрофизиологических исследованиях.

Немаловажное значение имеет схема иммунизации животного, ибо получение антисыворотки с достаточно высоким титром антител возможно лишь при правильно подобранной для данного вида животного схеме иммунизации. Из них можно отметить внутривенную, конъюнктивальную, подкожную иммунизации, иммунизацию с адьювантом Фрейнда и др. [2, 4, 28]. Полученные антисыворотки истощают с целью повышения их специфической активности и концентрируют диализом.

Иммунные глобулины вводились в мозговую ткань внутримозговой инъекцией через вживленные канюли или аппликацией на различные участки мозга. Ознакомившись с опубликованными сведениями, можно подметить, что чаще всего исследователи вводили антисыворотку в боковой желудочек мозга через имплантированную туда канюлю.

В последние годы выяснилось, что вещества, введенные в желудочки, неодинаково проникают в различные структуры мозга. Так, при перфузии желудочков мозга искусственной цереброспинальной жидкостью с добавлением альбумина, меченного J-131, последний проникает в ткань мозга на незначительную глубину. Общий захват индикатора мозговой тканью составляет примерно 1% активности перфузата [34].

В этом аспекте особый интерес представляет наличие в головном мозге «безбарьерных» зон. Как известно, в головном мозге обнаружены

участки, в которые почти беспрепятственно проникают введенные в кровь вещества [17]. На эти участки мозга следует обратить особое внимание исследователям, работающим в области иммунонейрофизиологии.

Таким образом, методы получения и приготовления антигенов, схемы иммунизации и пути введения антисывороток требуют более детального разрешения, т. е. нужны унифицированные методы, способствующие правильному пониманию результатов, полученных в разных лабораториях. Некоторую стандартизацию методов рекомендует Раутенберг [33] в своем критическом обзоре методов внутримозгового введения веществ и его влияния на получаемые результаты.

Ознакомившись, по возможности, с имеющимися работами в области иммунонейрофизиологии, выполненными как отечественными, так и зарубежными исследователями, можно заметить, что авторы изучали самые разнообразные функции мозга и его различных структур.

Например, Ярош и Прект [16] изучали эффект непосредственного действия антигел к фрагментам мембран синапсом на мозжечковый возбуждающий потенциал.

Для получения антимозговой сыворотки в качестве антигена они использовали мембранные фрагменты, полученные из изолированных синапсом мозжечка крыс. На открытой поверхности мозжечка антисыворотки прикладывались с помощью микропипеток к местам введения регистрирующих микроэлектродов.

Опыты показали, что транссинаптический компонент потенциала возбуждения параллельных волокон сильно супрессируется при введении мембранной сыворотки. Были получены четкие изменения по реверсии транссинаптических потенциалов возбуждения.

Аналогичных работ немного и подробное описание их не входило в нашу задачу. Для ознакомления с некоторыми из них мы рекомендуем работу Казначесва и Штарка [5].

Еще меньше работ, посвященных изучению влияния церебральных сывороток на процессы памяти и поведения животных.

Одним из первых в этом аспекте можно считать работу Михайловича и сотр. [24]. Они изучали влияние антисыворотки против гиппокампа и хвостатого ядра на запаздывающую альтернацию и визуальную дискриминацию у обезьян. Всего были 3 группы испытуемых обезьян, первой группе инъецировали в боковой желудочек мозга через имплантированную канюлю антисыворотку против хвостатого ядра, второй—против гиппокампа, третьей (контроль)—неиммунный гамма-глобулин.

У животных контрольной группы никаких изменений консолидации памяти и зрительной дискриминации не отмечалось. При введении же иммунных сывороток как против гиппокампа, так и против хвостатого ядра отмечались значительные изменения критерияльного уровня, правда, в различной степени.

Дергачев и Долгов [3] в опытах на крысах получили значительное ухудшение, по сравнению с контролем, выработки и сохранения двигательных-оборонительных навыков избавления и избегания тока у крыс,

получавших гамма-глобулины, выделенные из сыворотки кроликов, иммунизированных гомогенатами мозга обученных животных. Авторы считают, что при обучении животных происходят изменение антигенного спектра мозга, изменение спектра синтезируемых белков или веществ, связанных с ними, специфических для данного навыка.

Розенблат и Розен [32] в своих опытах сняли состояние обученности у крыс в результате интравентрикулярного введения им антисыворотки к экстрактам мозга других крыс, у которых был выработан тот же навык.

Монте и Телвер [25] отмечали, что антитела к экстрактам из затылочных, моторных и сенсорных областей обладали четкими различиями. Аналогичные данные приводятся у Марголиса [21].

В этой связи вызывает определенный интерес недавно опубликованная работа Ашмарина [1], в которой приводится вариант иммунохимического объяснения длительного замыкания в синапсе. Суть этой гипотезы в следующем.

На одной из мембран (например, постсинаптической) синапса имеются антигенные компоненты, которые при выключенном синапсе постоянно обновляются соответствующей системой клетки. При функционировании же синапса происходит усиление синтеза антигена, и его избыток, выходя из нейрона, взаимодействует с некоторыми клетками глии, функционально подобными лимфоцитам и макрофагам. Эти клетки вырабатывают антитела, которые специфически связываются с постсинаптической мембраной; а с пресинаптической—с помощью какого-либо неспецифического механизма (подобно связыванию комплемента в иммунологических реакциях).

Кроме этого варианта, допускается прямой контакт локальной предполагаемой иммунной системы с клетками, типа лимфоцитов (подобно иммунным системам, функционирующим при явлениях тканевой несовместимости). В конечном счете происходит длительное замыкание синапса.

Гипотеза Ашмарина пока не имеет прямых экспериментальных доказательств, однако ряд данных говорит о верности некоторых ее положений.

Известно, что в начальном периоде постнатальной жизни животные плохо поддаются обучению. Улучшение обучения в онтогенезе происходит постепенно и достигает наивысшего уровня у взрослых животных [11, 29, 35].

Наглядный пример этого—работа Риччио и сотр. [30], где демонстрируется постепенное улучшение выработки избегания в период неполовозрелости. Таким образом, наблюдается прямая корреляция между уровнем обучения и возрастом животного.

С другой стороны, известно, что клетки новорожденных животных характеризуются по образному выражению Гиршфельда [15] «серологической наивностью», которая сопровождается резко пониженной способностью вырабатывать антитела. Отсутствие или резкое снижение обра-

зования антител у новорожденных были отмечены многими учеными [8, 13, 14, 22], которыми было установлено, что способность к образованию антител коррелирует с возрастом животного. При графическом изображении этой зависимости образуется такая же кривая, которая получалась при выражении связи между возрастом и обучением.

При рассмотрении этих данных бросается в глаза параллелизм между степенью обучаемости животных и уровнем развития у них иммунологических процессов. К этой мысли нас приводит также то обстоятельство, что большинство мозгоспецифических антигенов образуется через некоторое время после рождения животных. Например, у новорожденных крыс в мозге среди растворимых белков не было обнаружено ни одного органоспецифического антигена. Они появляются только на 5—15 дни постнатальной жизни [6]. А так как крысы относятся к животным, имеющим сравнительно короткую продолжительность жизни, то, по-видимому, у долгоживущих видов образование специфических антигенов будет происходить в более поздние сроки постнатальной жизни.

Так, Варечка и Бауэр [37] выделили из мозга человека специфический L-гликопротеид, появляющийся через 6—7 месяцев после рождения.

Рассматривая все эти косвенные данные, можно предположить, что иммунохимические механизмы в таком аспекте, в каком мы к нему подходим, по-видимому, играют существенную роль в процессах долговременной нейробиологической памяти.

Можно надеяться, также, что иммунохимические подходы и методы дадут возможность получать однозначные ответы о качественных и количественных изменениях антигенного спектра различных структур мозга в механизмах обучения и памяти.

Институт экспериментальной биологии  
АН АрмССР

Поступило 20.II 1974 г.

Է. Գ. ԶԱԲԱՐՅԱՆ, Կ. Ք. ՆԱԶԱՐՅԱՆ

### ՀԻՇՈՂՈՒԹՅԱՆ ԻՄՈՒՆՈՆԵՅՐՈՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱՅԻ ՄԱՍԻՆ

#### Ա մ փ ո փ ո ս մ

Սպիտակուցային սինթեզի փոփոխությունների ուսումնասիրությունը վարժեցման ժամանակ և մի շարք այլ փորձեր հիմք ծառայեցին հաստատելու սպիտակուցների կարևորագույն դերը հիշողության պրոցեսներում:

Իմունոքիմիայի հաջողությունները մեթոդական տեսանկյունով հզոր խթան հանդիսացան սպիտակուցների հետազոտման համար: Նուրբ իմունոքիմիական մեթոդների կիրառումը հնարավորություն ընձեռեց հայտնաբերել ուղեղի մի շարք օրգանոսպեցիֆիկ սպիտակուցներ:

Այդ հետազոտություններում ոչ պակաս կարևոր նշանակություն ունի կենդանու իմունիդացման սխեման, քանի որ բարձր տիտրով հակասիճուկ ստանալը հաջող հետազոտման անհրաժեշտ գրավականն է: Մեծ նշանակու-

թյուն ունի նաև հակամարմիններ ներարկելու եղանակը: Պետք է քննադատաբար վերաբերվել ուղեղի կորային փորոքները ներարկելու հարցին և հաշվի առնել անարգելային կղզյակների առկայությունը և դերը:

Այս առումով հետաքրքիր է վերջերս հրատարակված հիշողության իմունոնյուրոգիական մեխանիզմի (սինապսների երկարատև միացման միջոցով) Աշմարինի հիպոթեզը, որը հնարավորություն է ընձեռում միավորել մի շարք առաջին հայացքից անջատված տվյալներ «հիշողության տրանսպորտի», սպիտակուցների և ՌՆՔ դերի մասին այդ մեխանիզմներում:

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Ашмарин И. П. Журн. эволюц. биол. и физиол., 9, 3, 217, 1973.
2. Бурбаева Г. Ш., Лазовский Д. В. Вестник АМН СССР, 26, 1, 50, 1971.
3. Дергачев В. В., Долгов О. Н. Бюл. экс. биол. и мед. 71, 4, 12, 1971.
4. Иммунохимический анализ. М., 1968.
5. Казначеев В. П., Штарк М. Б. Успехи физиол. наук, 2, 1, 70, 1971.
6. Свиридов С. М., Полякова Е. В. ДАН СССР, 187, 4, 925, 1969.
7. Agronoff B. F., Davis R. E., Brink J. J. Proc. Nat. Acadz Sci. 54, 788, 1965.
8. Baumgartner L. I. Immunol. 27, 407, 1934.
9. Barondes S. H., Cohen H. D. Science 160, 556, 1968.
10. Bodoch S. In: Protein metabolism of the nervous system. New York, 555, 1970.
11. Canestrari R. E. I. Gerontol. 18, 165, 1963.
12. Flexner I., Flexner I. B. Proc. Nat. Acad. Sci. 55, 369, 1966.
13. Freidberger E. U. Ztschr. Immunitätsforsch u. Exper. therap. 64, 295, 1929.
14. Freund I. I. Immunol. 17, 465, 1929.
15. Hirsfeld L. Ergebn. Hyg. u. Bact. 8, 367, 1926.
16. Jarosh E., Precht W. Brain Res., 12, 225, 1972.
17. Koella W. P., Sutin I. Intern. rev. neurobiol. 10, 31, 1967.
18. Kosinski E., Grabar P. Neurochem., 14, 273, 1967.
19. Levine S., Hoenig E., Kles M. Clin and exp. immun. 6, 503, 1970.
20. Mac Pherson C., Liakopoulou A. I. Immunol. 97, 450, 1966.
21. Margolis F. L. Proc. Nat. Acad. Sci. 69, 1221, 1972.
22. Maugeri S., Ztschr. F. Immunitätsforsch, 74, 473, 1932.
23. Michailovich L., Yankovic B. Nature, 192 565, 1961.
24. Michailovic L. Exptl. Neurol. 24, 325, 1969.
25. Monte N. D., Tulwar G. P. Y. neurochem. 14, 743, 1967.
26. Moore B. W., Mc Gregor D. I. Biol. Chem. 240, 2180, 1965.
27. Moore B. W., Pere V. Y. In: Physiological and biochemical aspects of nervous integration. New Gersey, 343, 1969.
28. Rajam P., Bogoch S. Immunology, 11, 211, 1966.
29. Riccio D. C., Rohrlaugh M., Hodges L. A. Devel. Psychobiol, 1, 103, 1968.
30. Riccio D. C., Schulenburg C. I. Canad. I. Psychol. 23, 429, 1969.
31. Robertis de E., Lapetina E., Recci-Saavedra I., Soto E. T. Life Sci. 5, 1979, 1969.
32. Rosenblatt F., Rosen S. Symp. Biol. Hungar 10, Biol. of memory. Budapest, 171, 1971.
33. Routtenberg A. Behav. Biol. 7, 601, 1972.
34. Sahar A., Hochwald C. Ransohoff I. Exptl. Neurol. 25, 2, 1969.
35. Talland G. Gerontologist 7, 4, 1967.
36. Wareska K. I. Neurochem 17, 829, 1970.
37. Wabecka K. In: Second International Meeting of the International society for Neurochemistry. Milano, 413, 1969.