

УДК 547.963.3:577.157.7

ИЗМЕНЕНИЕ МЕТИЛИРОВАНИЯ ДНК МОЗГА ПРИ ВЫРАБОТКЕ  
УСЛОВНОГО РЕФЛЕКСА ПАССИВНОГО ИЗБЕГАНИЯДАНИЕЛЯН И. С., МЕЛИКЯН Г. Г., АКОПЯН А. Г., ГАРИБЯН Д. В.,  
ДЖАГАЦПАНЯН И. А., ГАРИБДЖАНЯН Б. Т.

Институт тонкой органической химии АН Армении им. А. Л. Милджояна, Ереван

В соответствии с современными представлениями молекулярной биологии—одна из важнейших задач нейрoхимии—изучение молекулярных механизмов памяти, необходимым элементом которых является синтез ДНК.

Известно, что одной из форм выражения функциональной и метаболической активности ДНК служит процесс метилирования [1].

В настоящей работе изучен нуклеотидный состав ДНК в разных отделах мозга крыс и предпринята попытка выяснить, изменится ли уровень метилирования ДНК в процессе выработки условных рефлексов как модели ретроградной амнезии.

Опыты проводились в дневной период суток на белых беспородных крысах-самцах массой 130—150 г, содержащихся в одинаковых условиях и обычных камерах, по 15 животных в каждой группе. Для оценки амнезии у крыс вырабатывали условную реакцию пассивного избегания (УРПИ) с последующим применением электрошока в качестве мнестического фактора по модифицированной методике Viges, Vigesova [2]. В течение 3-х минут регистрировали время пребывания крыс в светлом и темном отсеках (необученные). Затем в темном отсеке обученные животные дополнительно получали однократный удар током через электродный пол, после чего использовали крыс, достигших максимального электросудорожного припадка. Проведение электрошока непосредственно после обучения вызывало стирание памятного следа. Тест на воспроизведение осуществляли через 24 часа у обеих групп животных.

Животных забивали декапитацией и извлекали кору больших полушарий и мозжечок. Из извлеченных органов выделяли ДНК по модифицированному методу Мармура [3]. Полученные препараты содержали не более 1,5—2% белка и РНК. Для определения нуклеотидного состава ДНК, включая 5-МЦ, препараты ДНК высушивали при 105°C и гидролизовали до оснований (99% муравьиная кислота, 175°C, 30 мин.). Основания разделяли с помощью двукратной одно-

мерной восходящей хроматографии на бумаге в растворителе *n*-бутанол : вода : аммиак (60 : 10 : 0,1) и определяли спектрофотометрическим методом [4].

Изучение мистических функций мозга крыс показало, что при воспроизведении процедуры через 24 часа обученные крысы забывали навыки так же, как и необученные животные и предпочитали находиться в темной части камеры.

Таблица

Нуклеотидный состав ДНК из разных отделов мозга крыс с ретроградной электрошоковой амнезией (n=6)

Отдел мозга	Группа животных	Основания в ДНК моль %					Г : Ц + МЦ
		Г	А	Ц	5-МЦ	Т	
Кора больших полушарий	необученные	21,7	29,4	20,9	1,02±0,19	28,1	43,6
	обученные	1,5	29,5	20,6	1,68±0,17	28,4	43,7
Мозжечок	необученные	21,6	28,3	20,5	0,74±0,24	28,4	42,8
	обученные	21,3	29,4	20,4	1,16±0,11	28,4	42,8

Примечание. Г—гуанин, А—аденин, Ц—цитозин, 5-МЦ—метилцитозин, Т—тимин.

Данные, приведенные в таблице, показывают, что содержание 5-МЦ в суммарной ДНК коры больших полушарий после выработки условного рефлекса было на 64,7% выше, чем у необученных крыс (1,02±0,19 и 1,68±0,17 моль соответственно), а в суммарной ДНК мозжечка заметных изменений в уровне метилирования не наблюдается. При этом нуклеотидный состав изученных ДНК не изменялся и соответствовал правилам Чаргаффа.

Выявленное увеличение степени метилирования ДНК коры больших полушарий свидетельствует о том, что геном клеток мозга не остается безучастным при образовании условно-рефлекторной связи и сам претерпевает при этом заметные структурные изменения. Эти изменения обнаружены в тех структурах мозга (кора больших полушарий), которые связаны с условно-рефлекторной деятельностью и формированием памяти.

Эти данные согласуются с результатами, полученными ранее при выработке у крыс других условных рефлексов (пищевых, оборонительных), при этом индуцируемое обучением метилирование ДНК имело обязательно обратимый характер [5]. Следовательно, выявленный эффект представляет собой ответ общего характера, возникший при обучении, и может отражать уровень функциональной активности клеток.

Мы склонны считать, что индуцируемое обучением увеличение степени метилирования вызвано, во-первых, интенсификацией синтеза ДНК в коре больших полушарий [6], во-вторых, обусловлено репаративным синтезом ДНК, который сопровождает выработку условных

рефлексов у животных и является процессом, дополняющим индуцированный обучением синтез ДНК [7]. Поскольку ДНК в клетке не инертна, то физиологические повреждения, возникающие при обучении, являются сигналом к репарации и приводят к восстановлению целостности генома. Основной путь репарации физиологических повреждений ДНК, по-видимому, заключается в выщеплении возникающих при обучении дополнительных остатков 5-МЦ и репарации получающихся брешей.

Известно также, что при обучении крыс происходит значительная активация нуклеаз в головном мозгу [8].

Наконец, индуцируемое суперметилирование ДНК в коре больших полушарий головного мозга может рассматриваться в качестве механизма дифференциальной транскрипции [9], которая сопровождается появлением в клетках мозга новых РНК [10] и белков [11].

Представленные данные позволяют сделать вывод о том, что одним из биохимических механизмов связи генетического аппарата с физиологической функцией нервных клеток при обучении может быть ферментативное метилирование, которое коррелирует с функциональной активностью клеток мозга.

## MODIFICATION OF DNA METHYLATION IN THE BRAIN DURING FORMATION OF THE CONDITIONED PASSIVE AVOIDANCE REFLEX

DANIELYAN I. S., MELIKYAN G. G., AKOPYAN A. G., GARIBYAN D. V.,  
DZHAGATSPANYAN I. A., GARIBDZHANYAN B. T.

Mndzhoyan Institute of Fine Organic Chemistry, Academy of Sciences  
of the Armenian Republic, Yerevan

The base composition of DNA including the level of 5-methylcytosine (5-MC) has been studied in various regions of rat brain (cerebral cortex and cerebellum) during the formation of the conditioned passive avoidance reflex with the subsequent use of electric shock as a model of retrograde amnesia.

It has been established that following the conditioned reflex formation, the content of 5-MC in the cerebral cortex increased by 64.7% as compared with the control. In contrast, no significant changes in DNA methylation were detected in cerebellum.

It is proposed that the process of conditioned reflex formation is associated with modification of the genome, and enzymatic methylation of DNA correlates with the functional activity of brain cells.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Третьяк Т. М. Успехи соврем. биол., т. 100, № 1(4), с. 20—28, 1985.
2. Illies J., Vuresova O. G. (сопр.) Physiol. Psychol., v. 56, p. 268—272, 1968.

3. Ромахов Г. А., Кирьянов Г. И., Дворкин В. М., Ванюшин Б. Ф. Биохимия, т. 41, № 6, с. 1038, 1976.
4. Ванюшин Б. Ф. Современные методы в биохимии, М., Медицина, с. 236, 1964.
5. Ванюшин Б. Ф., Тушмалова Н. А., Гуськова Л. В., Демичкина Н. П., Никандрова Л. Р. Мол. биология, т. II, № 1, с. 181—187, 1977.
6. Ашапкин В. В., Романов Г. А., Тушманова Н. А., Ванюшин Б. Ф. Научные доклады высшей школы. Биологические науки, № 11, с. 30—34, 1981.
7. Иванов В. А., Тушмалова Н. А. Успехи соврем. биол., т. 106, № 2(5), с. 163—178, 1988.
8. Третьяк Т. А., Семенова Т. П., Смирнова Н. М. Физiol. журн. СССР, т. 65, № 4, с. 507—512, 1979.
9. Adams R. L. P., Burdon R. H. *CRC. Crit. Rev. Biochem.*, v. 13, p. 349, 1982.
10. Gallo J., Bonnet K. *Psychol. Rev.*, v. 75, p. 109, 1971.
11. Ашмарин И. П. Загадки и открытия биохимии памяти. Изд-во ЛГУ, с. 159, 1975.

Поступила 17. VIII. 1990