

АКТИВНОСТЬ СУПЕРОКСИДИДИСМУТАЗЫ И КОНЦЕНТРАЦИЯ ГЛЮКОЗЫ В ЦНС *LYMNAEA STAGNALIS* ПРИ ОБУЧЕНИИ

Григорьян А. Л., Бокшиц Н. Ю., Романова К. С., Сидоров А. В.

Белорусский государственный университет, г. Минск, Беларусь

Актуальность. Обучение приводит к формированию и последующему сохранению разных форм поведения. В свою очередь это предполагает функциональные и структурные перестройки в нейронных сетях мозга по механизмам, имеющим много схожих черт у позвоночных и беспозвоночных животных [1]. Среди большого числа факторов внутренней среды, способных как минимум модифицировать реализацию когнитивных процессов, особое значение имеет уровень глюкозы в интерстиции и/или крови (гемолимфе). Данное соединение представляет собой основную форму, в которой углеводы пищи попадают в кровоток, что тем самым обеспечивает ее доставку потенциально к любой клетке в составе ЦНС, т. е. позволяет рассматривать глюкозу в качестве сигнальной молекулы, реализующей свое действие как фактор объемной передачи сигнала. Помимо прямого действия глюкозы на соответствующие чувствительные клетки мозга [2], нельзя исключить ее опосредованное влияние, связанное с усилением продукции АТФ и последующим возрастанием свободно-радикального фона в клетке как результат накопления активных форм кислорода (АФК) в качестве побочных продуктов окислительного фосфорилирования в митохондриях [3]. Можно предположить, что формирование поведенческого навыка ассоциируется с изменением глюкозного гомеостаза и тем самым создаются предпосылки для изменения редокс равновесия в нервной ткани, что может лежать в основе инициации последующих изменений поведения, поскольку сигнальные эффекты АФК хорошо известны [4].

Цель. Выявить возможные колебания концентрации глюкозы в гемолимфе и центральных нервных ганглиях модельного нейробиологического объекта, моллюска *Lymnaea stagnalis* при обучении, а также оценить активность ключевого фермента антиокислительной защиты клеток его ЦНС – супероксиддисмутазы (СОД) в экспериментальных условиях.

Материалы и методы исследования. Работа выполнена на животных одинакового размерного класса для опытной (высота раковины 3,8 (3,7; 4,0) см, масса 3,3 (3,1; 4,0) г) и контрольной (высота раковины 3,9 (3,7; 4,0) см, масса 3,5 (3,1; 4,1) г) групп ($z=0,17$; $P=0,87$ и $z=0,46$; $P=0,64$ для высоты и массы, соответственно, Mann-Whitney U-test). Расчетный возраст, определенный по высоте раковины, составляет 35,2 (33,3; 39,8) и 37,2 (33,3; 39,8) недель для опытной и контрольной групп, соответственно ($z=0,68$; $P=0,50$, Mann-Whitney U-test).

Выработку инструментального навыка в опытной группе проводили по модифицированной [5] методике К. Lukowiak и соавт., 1996, оценивая изменения лёгочной респирации (число респираторных попыток в ходе тренировочных сессий, частота и общая длительность лёгочного дыхания, длительность дыхательного акта и их распределение по длительности до и после обучения) в

результате тактильной стимуляции области пневмостома, проводимой на протяжении 3 (по 45 минут каждая) тренировочных сессий в течение каждого из 3 дней эксперимента. Для опытной группы было установлено снижение числа попыток лёгочного дыхания с течением времени эксперимента (Friedman ANOVA: $\chi^2=20,43$; $P<0,0088$) которое достигает максимума к последним тренировочным сессиям (до 2,5 раз по сравнению с начальными условиями). Кроме того, у этих животных, по прошествии 24 ч после окончания обучения, отмечено увеличение доли коротких, до 60 с, на фоне снижения числа продолжительных, свыше 120 с, респираторных актов ($\chi^2=14,32$; $P<0,01$) по сравнению с исходными (до тренировки) показателями. Однако в отношении других характеристик дыхательной активности статистически достоверных различий между группами не выявлено.

Концентрацию глюкозы в гемолимфе и гомогенатах центральных нервных ганглиев, а также активность СОД в ЦНС определяли через 24 ч после завершения обучения (забор материала осуществляли сразу по окончании поведенческих экспериментов) по описанной ранее методике [6] – глюкозоксидазным способом или на основе оценки скорости аутоокисления кверцетина. На одну экспериментальную пробу приходилось три препарата ЦНС. Статистическая обработка данных проведена посредством Statistica 6.0. В случае непараметрического характера для их сравнения использовали U-критерий Манна-Уитни, представляя данные в виде медианы (нижний; верхний квартили), при нормальном распределении – t-критерий Стьюдента для независимых групп, представляя их как среднее $\pm$ ошибка среднего.

Результаты. У подвергшихся обучению моллюсков было отмечено 1,25-кратное снижение концентрации глюкозы в гемолимфе по сравнению с контрольной группой, не подвергавшейся тренировкам (рис., а).

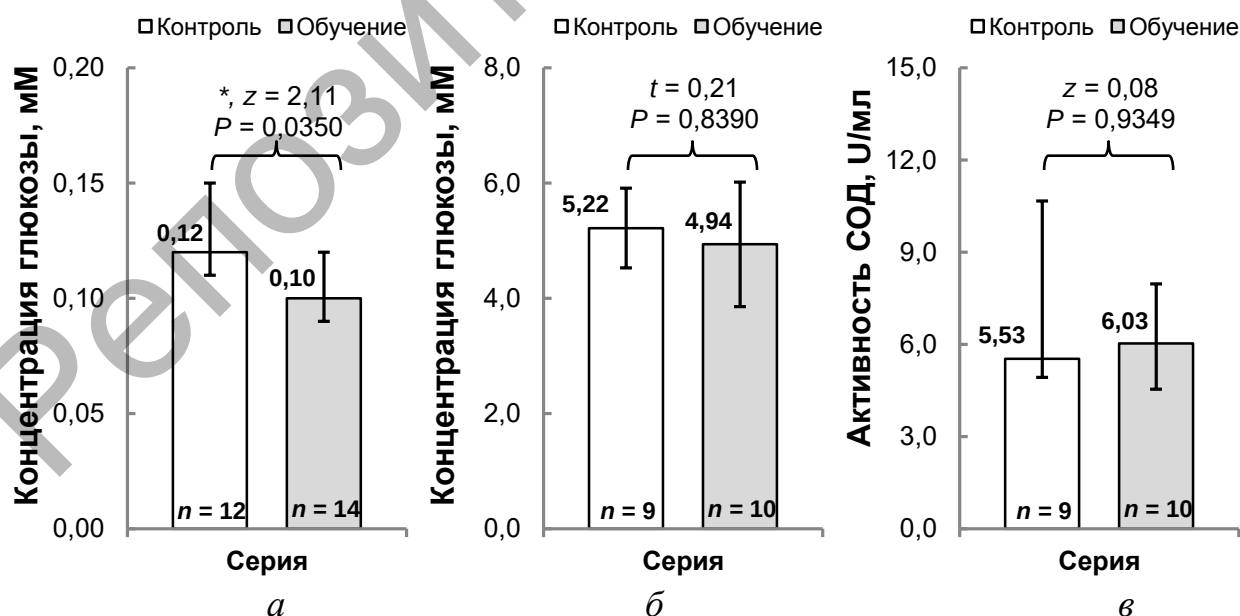


Рисунок – Содержание глюкозы в гемолимфе (а), нервных ганглиях (б), активность СОД в ЦНС (в) при обучении и в контроле

В отношении содержания глюкозы в ткани нервных ганглиев, а также супероксиддисмутазной активности их гомогенатов, статистически достоверных различий между опытной и контрольной группами не выявлено (рис. б и в).

Важно отметить тот факт, что в ходе обучения речь идет об изменении дыхательного паттерна животных, а не количественных характеристик лёгочной респирации моллюсков. Другими словами, нельзя говорить о модификации количества потребленного животными кислорода, что может напрямую повлиять на редокс-баланс в тканях организма, т. е. отмеченные изменения в уровне глюкозы в гемолимфе следует связывать именно с формированием инструментального навыка. Исходно высокий уровень глюкозы в ЦНС, по сравнению с гемолимфой, остается относительно неизменным при столь малых колебаниях содержания глюкозы в интерстиции [6, 7], оставляя продукцию АТФ на исходном уровне, стабилизируя тем самым уровень АФК в клетке, обуславливая неизменность супероксиддисмутазной активности.

Вывод. Обучение приводит к снижению содержания глюкозы во внутренней среде организма моллюсков, предопределяя и/или подкрепляя возможность формирования нового функционального состояния (поведенческого паттерна) животного, но не изменяет редокс баланс в клетках его нервных ганглиев.

Работа выполнена в рамках программы ГПНИ «Конвергенция-2020» (задание 3.10.2).

ЛИТЕРАТУРА

1. Alberini C. M. Transcription factors in long-term memory and synaptic plasticity // *Physiol. Rev.* – 2009. – Vol. 89. – P. 121–145.
2. López-Gamero A. J., Martínez F., Salazar K. et al. Brain glucose-sensing mechanism and energy homeostasis // *Mol. Neurobiol.* – 2019. – Vol. 56. – P. 769–796.
3. Harris J. J., Jolivet R., Attwell D. Synaptic energy use and supply // *Neuron.* – 2012. – Vol. 75. – P. 762–777.
4. Holmström K. M., Finkel T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signaling // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2014. – Vol. 6. – P. 411–421.
5. Сидоров А. В., Эль Рахал А., Маслова Г. Т. Корреляция между лёгочным дыханием и активностью супероксиддисмутазы в центральной нервной системе у моллюска *Lymnaea stagnalis* при научении // *Вестн. Белорус. ун-та. Сер.2. Химия, Биология, География.* – 2015. – № 1. – С. 43–47.
6. Shadenko V. N., Sidorov A. V. Antioxidative defense in the hepatopancreas and nerve ganglia of the mollusk *Lymnaea stagnalis* after acute experimental hyperglycemia // *J. Evol. Biochem. Physiol.* – 2020. – Vol. 56, № 3. – P. 235–242.
7. Шаденко В. Н., Сидоров А. В. Концентрация глюкозы в органах и тканях моллюска *Lymnaea stagnalis* в норме и в условиях экспериментальной гипергликемии // *Новости мед.-биол. наук.* – 2019. – Т. 19, № 2. – С. 12–17.