

РОЗПОДІЛ АДГЕЗИВНИХ БІЛКІВ У ГОЛОВНОМУ МОЗКУ ГРИЗУНІВ ПРИ СТАРІННІ ТА РАНЬОМУ ПОСТНАТАЛЬНОМУ РОЗВИТКУ

Марцофей О.А., Нестеренко О.С., Жданкін А.Є.

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара

Досліджено зміни рівня синаптогенезу та нейрогенезу та пов'язана з ними експресія NCAM у мозку ссавців протягом старіння та в ранньому постнатальному періоді. Охарактеризовано зміни експресії NCAM під час постнатального розвитку нервової системи монгольських піщанок та щурів. Визначено концентрацію NCAM у мозочку, гіпокампі та таламусі монгольських піщанок протягом старіння. Встановлено рівень концентрації NCAM у гіпокампі, таламусі та мозочку одноденних, одно- та тримісячних щурів. Показано, що рівень експресії NCAM зменшується у мозочку, гіпокампі та таламусі як старих, так і молодих особин. У таламусі щурів спостерігається стабільний рівень експресії NCAM під час раннього постнатального періоду.

Ключові слова: нейрональна молекула клітинної адгезії (нейрональний адгезивний білок, NCAM), синаптогенез, нейрогенез, старіння, постнатальний розвиток, гіпокамп, таламус, мозочок.

Постановка проблеми. Вік є основним фактором ризику розвитку найбільш поширених нейродегенеративних захворювань, в тому числі помірних когнітивних порушень, хвороб Альцгеймера та Паркінсона, судинних патологій головного мозку. При цьому змінюється розподіл адгезивних білків. Зміни при старінні можна також віднести до генетичних та екологічних факторів [1–3].

Адгезивні білки відносять до групи інтегральних трансмембранних білків. Це протеїни, які розміщені на клітинній поверхні та зв'язуються з іншими клітинами або з позаклітинним матриксом в процесі, який називається клітинна адгезія. По суті, молекул клітинної адгезії допомагають клітинам прилипати один до одного і до навколишнього середовища [4, 5].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Адгезивні білки відіграють ключову роль в міжклітинних з'єднаннях в найрізноманітніших клітинах, в тому числі й міжнейронних синапсах та контактах типу «нейрон-глія». Функціональні дослідження показують, що адгезивні білки беруть участь у багатьох процесах формування нейронної мережі, таких як орієнтація аксона, формування синапсів, регулювання синаптичної структури та утворення контактів типу «астроцит-синапс». Проте при старінні основна частина процесів або припиняється, або порушується, оскільки експресія загальної кількості адгезивних білків або перестав відбуватися, або їх концентрація значно зменшується. Деякі основні біологічні процеси сполучних комплексів нейронів та гліальних клітин нагадують епітеліальні клітини, проте, нейрон надає нейрональну функцію, такі як синаптична передача сигналу та пластичність. Як відомо, остання функція значно порушується при старінні [6].

Система міжклітинної адгезії бере участь у багатьох аспектах розвитку нейронів, в тому числі міграції клітин нейронів, формування шарів аксонів, формування синапсів та формування комплексу гліальних мереж, які оточують аксони та синапси. Ці адгезивні системи мають важливе значення як для морфології мозку, так і для складних функцій мозку, таких як пам'ять та навчання. Міжклітинні з'єднання в нервовій системі містять безліч трансмембранних білків, елементів цитоскелету та сигнальних комплексів [7].

Під час раннього розвитку нервової системи диференційовані нейрони мігрують до певного місця і подовжують свої аксони. Зростаючі аксони керують сигналами або притягання або відштовхування до певного місця. Після досягнення ними цільових областей, конусам зростання аксонів, як

і раніше, необхідно визнати відповідні клітини-мішені для формування синапсів. Потім сформовуються перші контакти між аксоном та дендритом, передачі сигналів через гомофільні та гетерофільні рецептори індуються диференціально синаптичної спеціалізації. Більшість з цих взаємодій та упізнань, як було показано, було опосередковано білками клітинної поверхні. Різні білки клітинної поверхні були ідентифіковані і охарактеризовані як важливі регулятори росту аксону та формування синапсів. Ці білки, взаємодіючи один з одним, між клітинами активують різні сигнальні шляхи та проводять контакт через клітинні мембрани. Частина цих білків відноситься до білків адгезії або до білків, що створюють передачу сигналу. Проте, відомо, що деякі адгезивні білки виконують сигнальну функцію, в той час як сигнальні білки сприяють міжклітинній адгезії, тому іноді складно відрізнити ці мембранні білки [8].

Нейрональний адгезивний білок та старіння головного мозку. Нейрональний адгезивний білок (NCAM або CD56) – гомофільний глікопротеїн. Експресується на поверхні нейронів, глії головного мозку та мозочку, скелетних м'язах, активованих Т-клітинах та НК-клітинах та нейроендокринній тканині. NCAM залучений до міжклітинної адгезії аксонів, відповідає за синаптичну пластичність, а також бере участь в процесах навчання та пам'яті. Також бере участь в розвитку серця. Відомо що завдяки альтернативному сплайсингу відомо 27 ізоформ цього білку, проте відомо три основні форми, у яких змінюється лише цитоплазматичний домен. Ізоформи можуть бути додатково модифіковані шляхом диференціального додавання комплексу N-пов'язаних та O-пов'язаних вуглеводів. Це NCAM-120 кД (ε GPI-якір), NCAM-140 кД (короткий цитоплазматичний домен) та NCAM-180 кД (довгий цитоплазматичний домен). Позаклітинний домен NCAM складається з п'яти імуноглобулін-подібних доменів в супроводі двох областей фібронектину типу III. FNIII область приймає сигнал, що потім йде до аксону. П'ять областей зв'язуються між собою гомофільними зв'язками; потрібно врахувати, що виділять цисгомофільні та трансгомофільні зв'язки. Крім того, виділяють декілька малих доменів у структурі білка. Найбільш вивчені – це VASE (варіабельний домен), який відповідає за гальмування росту аксону, та MSD (м'язовий домен), який відповідає за взаємодію NCAM з постсинаптичною мембраною м'язового волокна.

Відомо, що NCAM може приєднувати до складу своєї молекули полісахаридні ланцюжки полі-

сіалової кислоти. Вона є негативним регулятором NCAM-опосередкованої адгезії, проте активує міграції нейробластів. Приймає участь у процесах навчання та пам'яті.

NCAM модулює вплив фактору росту нервів (ФРН), індукує поздовжній ріст аксонів завдяки фактору росту фібробластів (ФРФ) та діє на сигнальний шлях р59Fyn. Порушення та мутації NCAM призводять до розвитку злоякісних новоутворень мозку. Доведено, що мутація білка впливає на розвиток множинної мієломи (ММ), хронічного мієлолейкозу, синдрому множинних нейроендокринних пухлини, пухлини Вільямса, нейробластом різної етіології, НК/Т-лімфоми, ацинарного раку підшлункової залози, феохромоцитоми, параназальних, дрібноклітинного раку легень та саркоми Юінга [9].

NCAM вперше описані Е. Боком, та незалежно від нього, Дж. Елдманом та інші дослідниками, зокрема, опубліковані повідомлення В.А. Березіна з співавторами. В головному мозку дорослої людини NCAM представляють комплекс з трьох імунохімічних ідентичних сіалоглікопротеїнів з молекулярною масою 180 кД, 140 кД і 120 кД, які називають NCAM-180, NCAM-140 та NCAM-120. Рідко, але також називають NCAM А, NCAM В і NCAM С відповідно до попереднього розподілення. Відмінності молекулярної маси визначаються довжиною трансмембранної і цитоплазматичної частини, А-форма та В-форма NCAM експресуються на нейронах, причому, форма А – по всьому тілу нейрона, на зовнішній поверхні мембрани і на постсинаптичній мембрані; В-форма та С-форма експресуються на астроцитах, С-форма також експресується на олігодендроцитах.

Ізоформи трансмембранного NCAM можуть розділятися на ектодомени завдяки дезінтегру та металопротеазі (ADAM), що входять до сімейства протеаз, в результаті чого утворюється 105-115 кДа розчинний позаклітинний доменний фрагмент (NCAM-EC) і менший внутрішньоклітинний доменний фрагмент (NCAM-IC) [10].

NCAM сприяє нормальному розвитку мозку, має такі плейотропні функції, які включають в клітинну адгезію, міграцію клітин, зростання нейритів, контроль пучків аксонів, відповідає за синаптичну пластичність, а також за навчання та пам'ять.

Як відомо, NCAM-180 і NCAM-140 являють собою трансмембранні форми, які мають довгі та короткі цитоплазматичні домени відповідно. NCAM-180 знаходиться в постсинаптичній щільності зрілих нейронів, а NCAM-140 виражається в конусах росту та валах аксонів розвиваючихся нейронів. NCAM-120 прикріплений до клітинної мембрани за допомогою зв'язку глікозилфосфатидилінозитолу (GPI) та виражається в першу чергу в глії. Проте всі ізоформи NCAM можуть підтримувати синаптогенез, формуючи переважно синапси на клітинах, що експресують будь-яку з трьох ізоформ. Обидві ізоформи білку, NCAM-180 і NCAM-140, сильно виражені в корі головного мозку гризунів під час ембріонального та раннього постнатального розвитку, та зберігаються в дорослому житті на більш низьких рівнях експресії. NCAM-120 знаходиться на низьких рівнях експресії в мозку плоду гризунів, але збільшує на початку постнатального розвитку та виражається в стабільному рівні експресії у дорослому організмі [11].

Експресія гена NCAM регулюється продуктами роботи цілого ряду генів, у тому числі гісторегуляторних. Крім того, рівень експресії молекул субстратної та клітинної адгезії змінюється при дії на

клітину нейротрансмітерів, деяких гормонів, трофічних факторів, наприклад, фактора росту нерва, зміни внутрішньоклітинної концентрації іонів Ca^{2+} і Na^+ , під впливом екстрацелюлярного матрикса.

NCAM-120 пов'язаний з полісіаловою кислотою на всіх стадіях розвитку мозку. Максимальну експресію спостерігається на 4-му тижні постнатального розвитку, що збігається з дозріванням олігодендроцитів і початком процесу мієлінізації, потім експресія NCAM-120 знижується [12].

Трансгенні миші, які сверхекспресують NCAM-EC на додаток до повноцінного NCAM, демонструють значне зниження синаптичних закінчень в ГАМКергічних інтернейронів та пірамідальних нейронів та мають дефіцит у сенсорному стробуванні і амфетамін-індукованої рухової активності. NCAM-EC трансгенна миша була висунута в якості потенційної моделі ГАМКергічних і поведінкових дефіцитів при шизофренії, і підвищення рівню NCAM-EC було заресстровано в гіпокампі і префронтальній корі при шизофренії. Плейотропна функція NCAM міметичного пептиду відповідає за підвищення синаптичної пластичності і виробляє нейропротекторну дію у тварин. Наприклад, FGL – NCAM, фактор росту фібробластів атагоністів рецепторів, може виробляти розворот робочого порушення пам'яті при шизофренії. Хоча розвиток експресії основних ізоформ NCAM і PSA-NCAM найбільше описаний в мозку гризунів, стосовно мозку людини дуже мало досліджень. Проте вивчена експресія PSA-NCAM в зубчастій звивині. Цікаво, що обидва білки, PSA-NCAM та NCAM-EC, були залучені в патофізіологію шизофренії.

Під час ембріонального розвитку кожна основна ізоформа NCAM також може піддаватися посттрансляційному полісіалюванню шляхом додавання α -2,8-пов'язаних залишків сіалової кислоти на п'ятий Ig-подібний домен NCAM. Полісіалова кислота PSA-NCAM виконує важливі функції в зростання аксона, синаптичній пластичності та синаптогенезі. PSA-NCAM відповідає за розробку та міграцію нейронів та синапсів в незрілій нервовій системі хребетних [13].

Крім мембраноасоційованих форм NCAM, в нормі існують і розчинні форми NCAM. Молекулярну масу 190 кД мають NCAMs1, 135 кД – NCAMs2, 115 кД – NCAMs3. NCAMs3 є позаклітинною частиною молекул NCAM А, NCAM В, NCAM С. NCAMs1 утворюється з NCAM А, NCAMs2 – з NCAM В. Моноклональні антитіла до трансмембранних і цитоплазматичних епітопів NCAM А і NCAM В реагують з NCAMs1 і NCAMs2, підтверджуючи, що NCAMs1 і NCAMs2 є інтактними формами NCAM А і NCAM В. Розчинні форми NCAM знайдені в спинномозковій рідині, сироватці крові, екстракті мозку щурів, екстрацелюлярному матриксу м'язів та периферичних нервів у концентрації близько 1 мкг/мл. Розчинні форми NCAM є модуляторами NCAM-опосередкованого поведіння клітини. У мозку людини міститься 1-2% розчиненої форми NCAM, що становить 25-100 мкг/мл залежно від стадії розвитку мозку.

Біохімічні аналізи підтвердили близькість людського білку NCAM з іншими видами. Очищена молекула має дуже високий вміст сіалової кислоти (34 г/100 г поліпептиду), амінокислотний склад у людини був схожий зі складом NCAM у інших видів. У NCAM людини відсутні такі амінокислоти, як цистеїн, метіонін та тирозин, у щурів відсутній тільки цистеїн та тирозин, у птахів (курка) – всі амінокислоти присутні. Значну частину вмісту складає гліцин (найбільше) та аспарагін, найменшу – гістидин, як у людини, так і у тварин [14].

Відомо, що NCAM-180, NCAM-140, NCAM-120, PSA-NCAM і трансмембранні розщеплені фрагменти NCAM регулюють розвиток префронтальної кори в період з 18 тижня вагітності до 25 років. Тобто NCAM має важливу функцію в ранніх і пізніх стадіях розвитку.

Мета роботи. Полягає у вивченні змін експресії NCAM у мозку ссавців під час старіння та протягом раннього постнатального періоду. Згідно з поставленою метою сформульовано наступні завдання:

1. Охарактеризувати причини зміни експресії NCAM під час раннього постнатального періоду та під час старіння.

2. Визначити концентрацію NCAM у мозочку, гіпокампі та таламусі монгольських піщанок під час старіння.

3. Провести порівняння отриманих концентрацій NCAM для 6-місячних та 24-місячних гербілів.

4. Визначити концентрацію NCAM та провести порівняння отриманих результатів у мозочку, гіпокампі та таламусі 1-денних, 1-місячних та 3-місячних щурів лінії Wistar.

Матеріали та методи досліджень.

Об'єкт дослідження. Об'єктом дослідження є дорослі (6 місяців) та старі (24 місяці) особи монгольських піщанок, а також 1-денні, 1-місячні та 3-місячні особи лабораторних щурів лінії Wistar, які утримувалися в стандартних умовах, зі стандартною дієтою.

У першій частині дослідження визначали концентрацію NCAM у мозку монгольських піщанок. Для цього використовували мозок 24 гербілів (Mongolian gerbils) вагою 82–95 г (маса мозку – 1.00 г), які були розділені на дві групи ($n = 12$): 1 – дорослі (6 місяців) особи, 2 – старі (24 місяці) тварини.

У другій частині дослідження визначали показники NCAM у мозку 1-денних, 1-місячних та 3-місячних щурів. З цієї метою використовували мозок 18 щурів, розподілених на три групи: 1 – одностадійні особи ($n = 4$, маса мозку – 0.60 г), 2 – одномісячні ($n = 6$, маса мозку – 1.30 г) і 3 – тримісячні тварини ($n = 6$, маса мозку – 1.60 г).

Отримання білкових фракцій з мозку тварин методом диференціального центрифугування. Диференціальне центрифугування є найпоширенішим методом виділення клітинних компонентів з гомогенатів тканин. Цей метод заснований на відмінності в швидкостях седиментації частинок, що відрізняються один від одного розмірами і щільністю. Матеріал, який розділяється, наприклад, гомогенат тканини, центрифугують при ступінчастому збільшенні відцентрового прискорення, яке вибирається так, щоб на кожному етапі на дно пробірки осаджувалася певна фракція. В кінці кожної стадії осад відокремлюють від надосадової рідини і кілька разів промивають, щоб у кінцевому підсумку отримати чистий осадову фракцію.

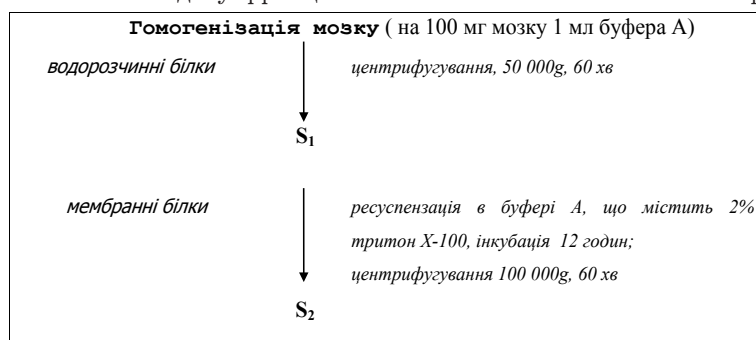


Рис. 1. Загальна схема диференціального центрифугування

Джерело: розроблено авторами

Отримання білкових фракцій з мозку гербілів проводилось методом центрифугування гомогенату речовини мозку в гіпотонічному буфері за схемою (рис. 1).

Для визначення розподілу білків, що різняться за місцем локалізації були отримані різні фракції, що містили водорозчинні та мембранні білки за допомогою диференціального центрифугування і застосування послідовної екстракції з тканини головного мозку в буфері А (склад буферу А: трис-гідроксиметиламінометан гідрохлорид (трис-HCl) – 25 мМ; рН 7.4; етилендіамінтетрацетова кислота (ЕДТА) – 1 мМ; β -меркаптоетанол – 2 мМ; фенілметилсульфоніл фторид (ФМСФ) – 0.2 мМ; мертіолят – 0.01%).

Твердофазний непрямий імуоферментний аналіз. Концентрацію NCAM у мозку тварин визначали за допомогою імуоферментного аналізу. Відомо, що імуоферментний аналіз (ІФА) займає одне з провідних місць в імунологічних дослідженнях. Це метод, який поєднує в собі високу специфічність імунологічних реакцій з чутливою з чутливою каталітичною дією ферментів. Нині ІФА використовується для вивчення будови і функції білків, їхнього біосинтезу і катаболізму, для визначення широкого класу речовин – гормонів, онкомаркерів, серцевих алкалоїдів, антибіотиків та інших фармакологічних речовин, а також вірусів, бактерій і антитіл проти них тощо. Цей метод має надзвичайно високу чутливість, він дозволяє визначити речовини у кількості до 10^{-12} моля в зразку об'ємом не більше 0.1 мл. Ще одна особливість методу ІФА – його висока специфічність, котра взагалі характерна для імунологічних методів. Об'єднання в методі ІФА імунологічних і ферментативних реакцій створює особливості, які не властиві кожній з цих реакцій, якщо вони проходять нарізно. Методу ІФА притаманна висока здатність до автоматизації майже всіх етапів, що дозволяє проводити експрес-аналіз з високим ступенем відтворення.

Кількісне визначення NCAM у фракціях тканин мозку проводили згідно зі стандартною методикою непрямого твердофазного імуоферментного аналізу з використанням кролячих моноспецифічних поліклональних антитіл проти NCAM та вторинних кролячих анти-IgG (Santa Cruz Biotechnology, USA). Отримані результати вимірювали за допомогою ІФА-рідера Anthos 2010 (Фінляндія) при 492 нм. Кількість NCAM виражали в мкг на 1 мл досліджуваного екстракту, що відповідає мкг досліджуваного білка в 100 мг тканини.

Статистична обробка результатів була проведена з використанням програми «Microsoft Office Excel 2007» за t-критерієм Ст'юдента. Вірогідними вважалися дані при $p < 0.05$.

Результати та їх обговорення. Процеси старіння напряму пов'язані з такими процесами, як порушення синаптогенезу, зниження синаптичної пластичності, погіршення пам'яті, нездатність до навчання. В кожному з цих випадків відмічається зниження експресії та функціональності нейронального білку клітинної адгезії (NCAM). Оскільки одна з головних функцій NCAM – утворення синапсу, то зрозуміло, до яких наслідків може призвести погіршення експресії білку.

Дані, отримані експериментально, вказують на тенденцію до зменшення експресії NCAM у мозочку, гіпокампі та таламусі, при порівнянні 6-місячних монгольських піщанок з 24-місячними (рис. 2).

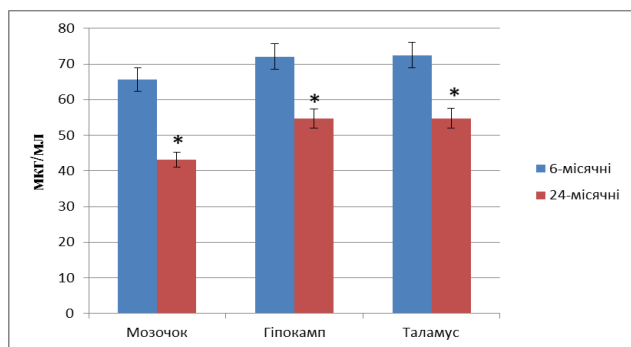


Рис. 2. Концентрація NCAM у мозочку, гіпокампі й таламусі 6-та 24-місячних монгольських піщанок, n = 24:

* p < 0.05 відносно 6-місячних тварин

Джерело: розроблено авторами

Згідно з отриманих даних, у мозочку 6-місячних гербілів концентрація NCAM становить 65.69 ± 3.40 мкг/мл, а у 24-місячних – 43.13 ± 1.41 мкг/мл (див. рис. 2). Тобто концентрація дослідного білку у 24-місячних у порівнянні з 6-місячними зменшилася на 34.34%. У гіпокампі 6-місячних гербілів концентрація NCAM складала 72.04 ± 1.69 мкг/мл, а у 24-місячних – 54.67 ± 0.62 мкг/мл. Тобто, концентрація дослідного білку в гіпокампі у 24-місячних у порівнянні з 6-місячними зменшилася на 24.10%.

У таламусі 6-місячних гербілів концентрація NCAM становила 72.46 ± 1.13 мкг/мл, а у 24-місячних – 54.74 ± 0.99 мкг/мл, що свідчить про зниження рівня протеїну на 24.57% в таламусі у 24-місячних у порівнянні з 6-місячними тваринами.

Стосовно мозочку потрібно сказати, що зниження експресії NCAM вказує, по-перше, на зменшення рівня синаптогенезу та нейрогенезу, що унеможливило утворення нових складних зв'язків, що будуть стосуватися складних рухів, по-друге, це в той час вказує на порушення координації рухів та орієнтації у просторі. І по-третє, у мозочку припиняється експресія NCAM-180, рівень експресії NCAM-140 поступово спадає, рівень NCAM-120 зберігається на стабільному низькому рівні. У гіпокампі зниження експресії NCAM негативно впливає на лімбічну систему, порушуються процеси консолідації пам'яті через порушення старих зв'язків та ускладнення утворення нових через порушення нейрогенезу, що викликано значним зниженням NCAM-140 та майже повним зниженням NCAM-180. У таламусі зниження експресії NCAM призводить до порушень роботи таламічних ядер. Це призводить до зменшення якості реагування на нові негативні подразники та в той час порушення утворення відповідних реакцій проти подразників, як зорових, так і тактильних і слухових. На відміну від інших відділів мозку, NCAM-180 ще зберігає деякий рівень експресії, та навіть гіпотетично більший за рівень NCAM-120.

Другий етап досліджень – визначення концентрації NCAM у мозочку, гіпокампі та таламусі 1-денних, 1-місячних та 3-місячних щурів. Експериментальні дані, отримані для цих тварин, наведені на рис. 3.

Згідно з отриманими результатами, концентрація NCAM у мозочку у новонароджених щурів (1-денні) є більшою, ніж у 1-місячних, тобто концентрація NCAM за місяць зменшилася на 16.65%, та більшою, ніж у 3-місячних, на 39.28% (див. рис. 3). У 1-місячних щурів концентрація NCAM у мозочку у порівнянні з 3-місячними щурами переважає майже на 24.00%. Спостерігається падіння експресії білку.

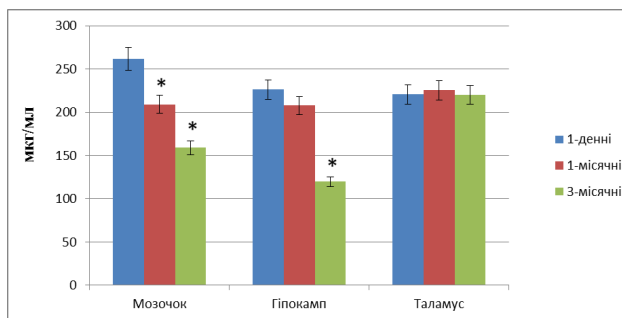


Рис. 3. Концентрація NCAM у мозочку, гіпокампі й таламусі 1-денних, 1-місячних та 3-місячних щурів, n = 18:

* p < 0.05 відносно 1-денних тварин

Джерело: розроблено авторами

Схожа картина спостерігається і з гіпокампом. Концентрація NCAM у гіпокампі у новонароджених щурів (1-денні) є більшою, ніж у 1-місячних, оскільки концентрація NCAM за місяць незначно зменшилася на 8.20%, та більшою, ніж у 3-місячних, оскільки за три місяці концентрація білку зменшилася на 47.12%. У 3-місячних щурів концентрація NCAM у мозочку у порівнянні з 1-місячними щурами зменшилася на 42.48%. Спостерігається падіння експресії білку. Зовсім інша картина спостерігається у таламусі. У 1-місячних щурів концентрація NCAM у порівнянні з новонародженими збільшилася лише на 2.17%. У 3-місячними тварини концентрація білку недостовірно зменшилася на 2.36%. Якщо ж порівнювати 1-місячних та 3-місячних, то концентрація білку за три місяці зменшилася лише на 0.20%. Рівень експресії білку за 90-денний період був майже постійним (див. рис. 3).

В перший день у мозочку, гіпокампі та таламусі за участю NCAM активно йдуть процеси синаптогенезу та нейрогенезу. У мозочку завдяки цьому починається розвиток координації рухів, орієнтації у просторі, підготовка до вивчення та закріплення складних рухових механізмів. В цей час у гіпокампі починається розвиток консолідації пам'яті, на основі чого розвивається орієнтація та переміщення у просторі. У таламусі нейрогенез та синаптогенез триває все життя. Вже з першого дня таламус відповідає за розвиток реакцій на зорові, слухові та тактильні подразники. Разом з цим зростає синаптична пластичність. Якщо ж брати повну картину експресії NCAM, то слід сказати, що на цій стадії розвитку ізоформа NCAM-180 переважає над ізоформами NCAM-140 та NCAM-120, які в цей час майже не утворюються, та разом з цим – дуже високий вміст полісіалової кислоти.

На 30-ий день спостерігається зменшення концентрації NCAM у мозочку та гіпокампі, що пов'язано зі зменшенням експресії NCAM. У мозочку це пов'язано також зі зменшенням рівня синаптогенезу та нейрогенезу, вже достатньо закріпленою руховою діяльністю, сформованою орієнтацією у просторі. Проте ще деякий час рівень синаптогенезу буде достатньо високим. Стосовно гіпокампі слід сказати, що процеси, пов'язані з консолідацією пам'яті, ненабагато втратили свою активність та ще деякий час будуть на високому рівні. Проте потрібно сказати, що концентрація білку поступово спадає, і той рівень навчання та запам'ятовування, який був у перші десять-двадцять днів, вже не буде спостерігатися в подальшому. Концентрація NCAM та пов'язаний з ним синаптогенез та нейрогенез в таламусі зберігає відносно стабільність, оскільки

постійно відбувається запам'ятовування дія подразників та формування реакцій на них. Взагалі це був максимум концентрації білку в цій частині мозку. На цьому етапі вже переважає ізоформа NCAM-140, NCAM-180 поступово менше та менше утворюється, NCAM-120 тільки починає набирати обертів. Вміст сіалової кислоти значно падає. Це стосується мозочку та гіпокампу. У таламусі NCAM-180 та NCAM-140 знаходяться на високому рівні, NCAM-120 поки не утворюється.

На 90-й день спостерігається значне падіння концентрації білку у мозочку та гіпокампі. У мозочку це пов'язано з достатньо розвиненими міжнейронними зв'язками, які відповідають за рухову діяльність. У гіпокампі це пов'язано зі розвинутою здатністю консолідації пам'яті. Таламус зберігає на початковому рівні експресію білку, завдяки чому зберігається аналіз дій подразників та створення відповідних реакцій на них, проте з цього часу намічається тенденція до швидкого спаду. Слід зазначити, що синаптична пластичність з цього часу починає погіршуватися. Саме в цей час NCAM-180 утворюється на дуже низькому рівні, NCAM-120 досягає свого незначного піку, NCAM-140 ще довгий час буде зростати. Вміст полісіалової кислоти досягає своєї критично низької точки.

Висновки та пропозиції. Резюмуючи експериментальні дані проведених досліджень, можна стверджувати, що:

1. Концентрація NCAM зменшується у мозочку, гіпокампі та таламусі у старих 24-місячних гербілів у порівнянні з 6-ти місячними. Це викликано зменшенням рівням синаптогенезу та загальним падінням експресії білку.

2. У гіпокампі та таламусі 24-місячних гербілів концентрація NCAM дещо більша, ніж у мозочку, що пояснюється збереженням достатнього рівня нейрогенезу у вище названих відділах.

3. Концентрація дослідного білку у мозочку у 24-місячних у порівнянні з 6-місячними зменшилася на 34.34%. Концентрація NCAM в гіпокампі у 24-місячних у порівнянні з 6-місячними зменшилася на 24.10%. Концентрація NCAM в таламусі у 24-місячних у порівнянні з 6-місячними зменшилася на 24.57%.

4. У новонароджених (1-денних) щурів процеси синаптогенезу та нейрогенезу відбуваються найактивніше, оскільки в цей час серед ізоформ NCAM на першому місці стоїть NCAM-180, спостерігається високий рівень насиченості NCAM полісіаловою кислотою. Тому рівень NCAM у цей період у мозочку, гіпокампу та при деяких умовах у таламусі найвищий.

5. Концентрація NCAM у мозочку, гіпокампі та таламусі 1-місячних тварин є вищою, ніж у 3-місячних. Стабільний рівень експресії NCAM спостерігається у таламусі. Саме в цей період на перше місце стають ізоформи NCAM-140 та NCAM-120, які заміщають NCAM-180. При цьому спадає рівень полісіалової кислоти.

6. У 1-місячних щурів концентрація NCAM у таламусі у порівнянні з новонародженими збільшилася лише на 2.17%. У 3-місячних тварин концентрація білку недостовірно зменшилася на 2.36%, у порівнянні з 1-місячними. Це вказує на високий рівень синаптогенезу, нейрогенезу та збереженням на відносно середньому рівні ізоформи NCAM-180.

Список літератури:

1. Age trends for failures of sustained attention / J. S. A. Carrier, A. Cheyne, G. J. F. Solman [et al.] // *Psychology and Aging*. – 2010. – Vol. 25. – № 3. – P. 569-574.
2. Chang L. Effects of age and sex on brain glutamate and other metabolites / L. Chang, C. S. Jiang, T. Ernst // *Magn. Reson. Imaging*. – 2009. – Vol. 27. – № 1. – P. 142-145.
3. Cognitive activities delay onset of memory decline in persons who develop dementia / C. B. Hall, R. B. Lipton, M. Sliwinski [et al.] // *Neurology*. – 2009. – Vol. 73. – № 5. – P. 356-361.
4. Cho W. Membrane-protein interactions in cell signaling and membrane trafficking / W. Cho, R.V. Stahelin // *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*. – 2005. – № 34. – P. 119-151.
5. Mapping the human membrane proteome: a majority of the human membrane proteins can be classified according to function and evolutionary origin / M. S. Almén, K. J. Nordström, R. Fredriksson [et al.] // *BMC Biol.* – 2009. – Vol. 7. – № 50. – P. 1-14.
6. Kang H. Motor axon regeneration and muscle reinnervation in young adult and aged animals / H. Kang, J. W. Lichtman // *J. Neurosci.* – 2013. – Vol. 33. – № 50. – P. 19480-19491.
7. Paranodal reorganization results in the depletion of transverse bands in the aged central nervous system / M. N. Shepherd, A. D. Pomier, C. S. Velazco [et al.] // *Neurobiol. Aging*. – 2012. – Vol. 33. – № 1. – P. 203-214.
8. Defects in synapse structure and function precede motor neuron degeneration in *Drosophila* models of FUS-related ALS / M. Shahidullah, S. J. Le Marchand, H. Fei [et al.] // *J. Neurosci.* – 2013. – Vol. 33. – № 50. – P. 19590-19598.
9. Cognitive activities delay onset of memory decline in persons who develop dementia / C. B. Hall, R. B. Lipton, M. Sliwinski [et al.] // *Neurology*. – 2009. – Vol. 73. – № 5. – P. 356-361.
10. The adhesion molecule NCAM promotes ovarian cancer progression via FGFR signalling / S. Zecchini, L. Bombardelli, A. Decio [et al.] // *EMBO Mol. Med.* – 2011. – Vol. 3. – № 8. – P. 480-494.
11. A peptide mimetic targeting trans-homophilic NCAM binding sites promotes spatial learning and neural plasticity in the hippocampus / M. A van der Kooij, M. Fantin, I. Kraev [et al.] // *Neuropsychopharmacology*. – 2014. – № 39. – P. 1148-1158.
12. Amoureux M-C. NCAM 180 Regulates Ric8A Membrane Localization and Potentiates β -Adrenergic Response / M.-C. Amoureux, S. Nicolas, G. Rougon // *PLoS One*. – 2012. – Vol. 7. – № 2. – P. 1-8.
13. Transgenic mice overexpressing the extracellular domain of NCAM are impaired in working memory and cortical plasticity / H. B. Leann, K. Gaga, S. Luminita [et al.] // *Neurobiol. Dis.* – 2011. – Vol. 43. – № 2. – P. 372-378.
14. Binding of the Receptor Tyrosine Kinase TrkB to the Neural Cell Adhesion Molecule (NCAM) Regulates Phosphorylation of NCAM and NCAM-dependent Neurite Outgrowth / C. Cassens, R. Kleene, M.-F. Xiao [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2010. – Vol. 285. – № 37. – P. 28959-28967.

Марцофей А.А., Нестеренко О.С., Жданкин А.Е.

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара

РАСПРЕДЕЛЕНИЕ АДГЕЗИВНЫХ БЕЛКОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ ГРЫЗУНОВ ПРИ СТАРЕНИИ И РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ РАЗВИТИИ

Аннотация

Исследованы изменения уровня синаптогенеза, нейрогенеза и связанная с ними экспрессия NCAM в мозге млекопитающих в течение старения и в раннем постнатальном периоде. Охарактеризованы изменения экспрессии NCAM во время постнатального развития нервной системы монгольских песчанок и крыс. Определена концентрация белка в мозжечке, гиппокампе и таламусе монгольских песчанок в течение старения. Установлен уровень концентрации NCAM в гиппокампе, таламусе и мозжечке однодневных, одно- и трехмесячных крыс. Показано, что уровень экспрессии NCAM уменьшается в мозжечке, гиппокампе и таламусе как старых, так и молодых особей. В таламусе крыс наблюдается стабильный уровень экспрессии NCAM во время раннего постнатального периода.

Ключевые слова: нейрональная молекула клеточной адгезии (нейрональный адгезивный белок, NCAM), синаптогенез, нейрогенез, старение, постнатальное развитие, гиппокамп, таламус, мозжечок.

Martsofei O.A., Nesterenko O.S., Zhdankin A.Ye.

Oles Honchar Dnipropetrovsk National University

DISTRIBUTION OF NEURAL CELL ADHESION MOLECULES IN THE RODENTS' BRAIN DURING AGING AND EARLY POSTNATAL DEVELOPMENT

Summary

The changes of synaptogenesis and neurogenesis and related NCAM expression in mammalian brain during aging and in the early postnatal period are studied. Changes of NCAM expression during postnatal development of the nervous system of Mongolian gerbils and rats are characterized. Concentrations of NCAM in the cerebellum, thalamus and hippocampus of Mongolian gerbils during aging are determined. The level of concentration of NCAM in the hippocampus, thalamus and cerebellum of one-day, one-month and three-month rats is examined. It is shown that NCAM expression level decreases in the cerebellum, hippocampus and thalamus of both old and young animals. In the rats' thalamus one can observe stable level of NCAM expression during the early postnatal period.

Keywords: neural cell adhesion molecule (neural adhesive protein, NCAM), synaptogenesis, neurogenesis, aging, postnatal development, hippocampus, thalamus, cerebellum.

УДК 616.993:595.42

ИКСОДОВЫЕ КЛЕЩИ – ПЕРЕНОСЧИКИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МНОГИХ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ

Захарчук А.И., Кривчанская М.И., Громик О.А.

Буковинский государственный медицинский университет

Подавляющее большинство заболеваний, возбудители которых передаются иксодовыми клещами, относится к группе природно-очаговых трансмиссивных болезней. Представители иксодовых клещей распространены, как в Украине, так и за рубежом. Иксодовые клещи имеют большое медицинское и ветеринарное значение. Они переносят много возбудителей болезней человека и животных. Весенне-летний период – это сезон активности клещей на всей территории Украины, ежегодно регистрируются единичные случаи или вспышки заболеваний людей.

Ключевые слова: иксодовые клещи, иксодовый клещевой боррелиоз, клещевой вирусный энцефалит, Марсельская лихорадка, индивидуальная и общественная профилактика.

Постановка проблемы. Иксодовые клещи – облигатные гематофаги, временные внешние паразиты, которые ожидают животных-хозяев в открытой природе.

Анализ последних исследований и публикаций. Они залезают на невысокие растения, где сидят, вытянув вперед передние ноги, на которых имеются органы чувств. Круг животных-хозяев очень широк. Имаго питается на животных большого размера – копытных, личинки и нимфы – на грызунах, насекомых, мелких хищниках, птицах, ящерицах. Взрослые клещи могут сосать и кровь человека. У них на головке находится хоботок с крючками. С помощью хелицер клещи разрезают кожу, а крючками хоботка прикрепляются к ней на несколько (4-16) дней и высасывают значительное количество крови, увеличиваясь в массе в 220 раз. Это характерно для личинок, нимф и самок, имеющих небольшой щиток на спине, что позволяет их телу растягиваться и увеличиваться при сосании крови. У самцов тело не увеличивается, хитиновый щиток, покрывающий всю спину, не позволяет увеличиваться в размерах, и они меньше пьют крови или вовсе не питаются. Питание – очень сложный процесс, во время которого клещ не только сосет кровь, но и развивается. Происхо-

ток с крючками. С помощью хелицер клещи разрезают кожу, а крючками хоботка прикрепляются к ней на несколько (4-16) дней и высасывают значительное количество крови, увеличиваясь в массе в 220 раз. Это характерно для личинок, нимф и самок, имеющих небольшой щиток на спине, что позволяет их телу растягиваться и увеличиваться при сосании крови. У самцов тело не увеличивается, хитиновый щиток, покрывающий всю спину, не позволяет увеличиваться в размерах, и они меньше пьют крови или вовсе не питаются. Питание – очень сложный процесс, во время которого клещ не только сосет кровь, но и развивается. Происхо-