ВОВЛЕЧЕНИЕ НОВООБРАЗОВАННЫХ И ПРЕДСУЩЕСТВУЮЩИХ НЕЙРОНОВ МОЗГА ВЗРОСЛОЙ МЫШИ В ПРОЦЕССЫ ПРИОБРЕТЕНИЯ И ИЗВЛЕЧЕНИЯ ПАМЯТИ В МОДЕЛИ ОДНОКРАТНОГО ОБОНЯТЕЛЬНОГО ОБУЧЕНИЯ

Кедров А.В.¹, Минеева О.А.^{1,2}, Ениколопов Г.Н.^{2,3}, Анохин К.В.^{1,4,5}

¹ФБГНУ «НИИ нормальной физиологии им. П.К. Анохина», Москва, Россия;
²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Московская область, Россия; ³Университет Стоуни Брук, Стоуни Брук, штат Нью-Йорк, США; ⁴НИЦ “Курчатовский институт”, Москва, Россия; ⁵Институт перспективных исследований мозга, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия
dr.kedrov@mail.ru

Нейрогенез и интеграция новообразованных нейронов в существующие нейрональные сети происходят в обонятельной луковице и зубчатой извилине гиппокампа взрослого мозга млекопитающих в течение всей жизни. Было показано, что начиная с 2-х недельного возраста, новообразованные гранулярные клетки обонятельной луковицы демонстрируют повышенную активность при предъявлении новых запахов, а также повышенную синаптическую пластичность по сравнению со зрелыми гранулярными клетками. Новообразованные гранулярные клетки гиппокампа также имеют собственное окно повышенной пластичности, находящееся в промежутке 4-6 недель после их рождения. Однако, предыдущие исследования роли в поведении новообразованных нейронов гиппокампа и, в особенности, обонятельной луковицы дали противоречивые результаты. Было выдвинуто предположение о том, что вовлечение новообразованных нейронов в обонятельное обучение зависит от типа поведенческой задачи (является ли она оперантной или неоперантной). В нашем исследовании мы проверяли эту гипотезу на примере модели обонятельного условно-рефлекторного замирания.

На первом этапе мы разработали и валидировали однократную модель обонятельного условно-рефлекторного замирания на мышах, время обучения в которой составляет 60 секунд, а формируемая память является долговременной и сохраняется как минимум в течение 2-х недель. Преимущество этой поведенческой модели заключается в возможности исследования паттернов активации нейронов не только во время извлечения памяти, т.е. тестирования животного, но и в ранние моменты ее формирования (т.е. непосредственно после однократного обучения). Затем, используя картирование нейрональной активности по экспрессии c-Fos, мы установили, что в нашей модели, как гранулярные клетки зубчатой извилины, так и гранулярные клетки обонятельной луковицы преимущественно активируются при извлечении памяти. Более того, активация обеих популяций гранулярных клеток тем больше, чем больше временной интервал между обучением и тестом. Также было показано, что лезвия зубчатой извилины при извлечении памяти активируются асимметричным образом: увеличение количества экспрессирующих c-Fos гранулярных клеток происходило только в супрапиримидальном лезвии. Для определения возраста новообразованных нейронов были использованы инъекции тимидиновых аналогов за 4 и 2 недели до обучения. Мы не обнаружили в гиппокампе

гранулярных клеток, инкорпориовавших какой-либо тимидиновый аналог и экспрессирующих c-Fos, ни при приобретении памяти, ни при её извлечении. В обонятельной луковице только 1,6-2,7% от 2-, 4- и 6-тинедельных новообразованных гранулярных клеток экспрессировали c-Fos при извлечении памяти. Таким образом, лишь небольшая доля новообразованных гранулярных клеток, вовлечена в приобретение и извлечение памяти в однократной модели условно-рефлекторного замирания на запах. Полученные результаты согласуются с гипотезой, что новообразованные обонятельные гранулярные клетки преимущественно вовлекаются в оперантные обонятельные задачи с положительным подкреплением.

INVOLVEMENT OF ADULT-BORN AND PREEXISTING OLFACTORY BULB AND DENTATE GYRUS NEURONS IN A SINGLE-TRIAL OLFACTORY MEMORY ACQUISITION AND RETRIEVAL IN MICE

Kedrov A.V.¹, Mineyeva O.A.^{1,2}, Enikolopov G.N.^{2,3}, Anokhin K.V.^{1,4,5}

¹P.K. Anokhin Research Institute of Normal Physiology, Moscow, Russia;

²Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Moscow Region, Russia; ³Stony Brook University, Stony Brook, NY, USA;

⁴National Research Center "Kurchatov Institute", Moscow, Russia;

⁵Institute for Advanced Brain Studies, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

dr.kedrov@mail.ru

Neurogenesis and incorporation of new neurons into preexisting neuronal circuits occur throughout adulthood in the olfactory bulb and dentate gyrus of the hippocampus of the mammalian brain. It was shown, that starting with 2 weeks after they are born from stem cells, new olfactory granule cells exhibit enhanced responsiveness to novel odors and enhanced plasticity in the input synapses compared to preexisting granule cells. Similarly, new hippocampal granule cells have their own plasticity window. Their input synapses demonstrate enhanced plasticity in a time window between approximately 4 and 6 weeks after their birth, as compared to their mature counterparts. However, numerous previous studies of the roles of the hippocampal adult-born granule cells and, especially, of olfactory granule cells, in olfactory behavior have reported inconsistent results. It was suggested that the involvement of adult-born neurons in olfactory learning may be dependent on the nature of the behavioral task (operant vs. non-operant). In our study, we tested this hypothesis using the olfactory fear conditioning model.

First, we have developed and validated a single-trial olfactory fear conditioning model in mice. The training time in which is limited to 60 seconds and the olfactory associative memory formed in this model is long-term and is maintained for at least two weeks. This model provides an opportunity to investigate not only the patterns of neuronal activation during testing but also neural circuits, which are activated at the earliest moments of the formation of olfactory memory (i.e., immediately at the time of training). Next, using c-Fos mapping we established that both dentate gyrus granule cells and olfactory granule

cells are mainly activated during fear memory retrieval rather than its acquisition. Moreover, both types of granule cells are activated upon olfactory memory retrieval in a time-dependent manner, such that the number of activated (c-Fos-positive) cells increases as the time between the training and testing session is increased. Blades of the dentate gyrus are activated in an asymmetric manner during olfactory memory retrieval, with c-Fos expression limited exclusively to the suprapyramidal, but not infrapyramidal, neurons. We have used injections thymidine analogs for detection of adult-born neurons of different ages. We did not observe any marked hippocampal adult-born c-Fos-positive cells both during training and in the tests. In the olfactory bulb, only a small fraction (1.6-2.7%) of 2-, 4-, and 6-weeks old newborn granule cells expressed c-Fos during memory retrieval. Thus, adult-born granule cells demonstrate little c-Fos-dependent involvement in the acquisition and retrieval of memory in this single-trial model. This data is consistent with the hypothesis that adult-born granule cells of the olfactory bulb are less involved in odor-cued associative fear memory than odor-cued operant behavior memory.

All animal procedures were performed in agreement with the requirements of the Committee on Animal Care of the National Research Center "Kurchatov Institute" (protocol No. 1, September 7th, 2015) and with the Russian Federation Order Requirements N 267 M3 and the National Institutes of Health Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.