

УЧАСТИЕ ГАНГЛИОЗИДОВ В МОДИФИКАЦИИ НЕЙРОНАЛЬНЫХ МЕМБРАН

ТУМАНОВА С. Ю., ПРОХОРОВА М. И.

Рассматривается роль ганглиозидов в модификации поверхности нейрональных мембран, обусловленная изменением их структур за счет гликозилирования, ре- и де-сигналирования, ацетилирования и образования лактонов и межмолекулярными взаимодействиями с ионами металлов, гликопротеинами и фосфолипидами.

В последние годы функции клеточной поверхности стали предметом исключительного внимания исследователей. Можно считать доказанным, что от макромолекулярных процессов поверхности зависят ионный обмен, проницаемость, эндо- и экзоцитоз, иммунологические реакции, межклеточные контакты, морфогенетическая и тканеспецифическая агрегация клеток [1, 2]. Поверхность клетки является также универсальным рецептором для гормонов, медиаторов, нейропептидов, антигенов, вирусов, токсинов, наркотиков.

Основными и важнейшими компонентами надмембранного слоя являются гликолипиды и гликопротеины, молекулы которых образуют экстраклеточный матрикс. Поверхностный матрикс представляет собой комплексную, динамичную, интегративную систему, в которой происходит непрерывное взаимодействие молекул и где изменение локализации или экспонированности отдельных компонентов приводит к глубоким изменениям всего матрикса.

Не вызывает сомнения, что состав, структура и динамизм поверхностных молекул влияют на деление, рост, дифференциацию, коммуникацию и гибель клетки [3, 4]. Однако роль гликозилированных липидов и белков поверхности в этих явлениях пока не выяснена. Тем не менее доказано, что циклическая переорганизация гликолипидов и гликопротеинов поверхности является механизмом, регулирующим пролиферацию клеток, хотя причинно-следственные отношения в этом процессе не ясны [5]. Можно считать, что в нейрональных мембранах динамичные процессы поверхности протекают исключительно интенсивно и определяют проведение возбуждения, пластичность синаптических контактов, образование и устойчивость ансамблей нейронов, сортирование, передачу и хранение информации и, следовательно, формирование памяти.

Структура ганглиозидов мозга. Богатейшие потенциальные возможности для выполнения многообразных и специфических функций нейрональных мембран заключены не только в бесконечном разнообразии стереоспецифических структур гликолипидов и гликопротеинов, но и в многообразии их связей и множественности конформационных изменений.

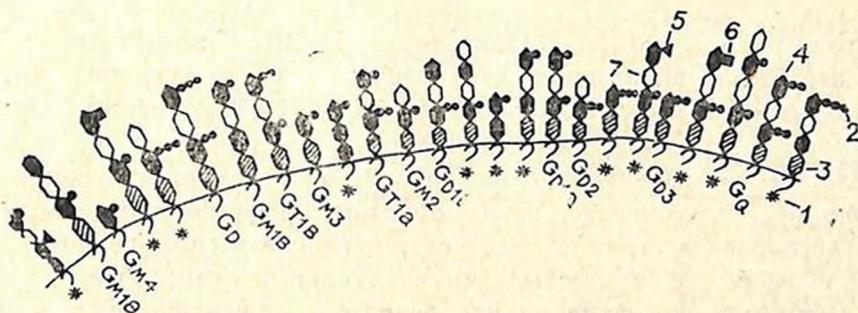


Рис. 1. Структурное разнообразие олигосахаридной части индивидуальных ганглиозидов мозга (номенклатура по Svennerholm): 1—новые ганглиозиды, 2—N-ацетилнейраминовая кислота, 3—глюкоза, 4—галактоза, 5—N-гликолилнейраминовая кислота, 6—фукоза, 7—N-ацетилгалактозамин

Кислые гликолипиды—ганглиозиды обогащают поверхность наиболее возбудимых нейрональных мембран, в которых постоянные структурные перестройки являются основой функционирования [6—11]. Поэтому, не забывая об интегральном вкладе гликолипидов и гликопротеинов в динамичность нейронального матрикса, следует рассмотреть участие ганглиозидов в функциональной активности нейронов.

Специфика поверхности нейрональных мембран определяется прежде всего структурой индивидуальных ганглиозидов, число которых продолжает увеличиваться, хотя к настоящему времени в нервной ткани млекопитающих охарактеризовано свыше 25 индивидуальных ганглиозидов [11, 12]. Крайне разнообразная, с обилием заряженных групп олигосахаридная часть является доминирующей в определении химических, иммунологических свойств молекулы ганглиозидов. Олигосахаридная часть индивидуальных ганглиозидов сильно варьирует (рис. 1). Кроме известных моносialogанглиозидов GM_1 , GM_2 , GM_3 , GM_4 , обнаружены ганглиозиды, содержащие в олигосахаридной цепочке только молекулы галактозы [13, 14], дополнительную молекулу N-ацетилгалактозамина [15] и фукозу [16], а также моносialogанглиозиды, имеющие иную связь N-ацетилгалактозамина с галактозой [17] и присоединение N-ацетилнейраминовой кислоты к терминальной галактозе [18].

Олигосахаридная часть дисialogанглиозидов также усложнилась появлением соединений с дополнительной молекулой N-ацетилгалактозамина [19], фукозы [20] и с N-гликолилнейраминовой кислотой [16].

Структура трисialogанглиозидов обогатилась необычной тримерной связью молекул нейраминовой кислоты, установленной до этого

только в пентаспалоганглиозидах [21—23]. Такой же тип связи был обнаружен в тетраспалоганглиозидах [24—26]. По-видимому, структурное многообразие ганглиозидов этим не исчерпывается, усовершенствование методов их выделения умножит число индивидуальных ганглиозидов мозговых спинальных. Следует отметить, что 90% спальной кислоты липидов в мозгу приходится на долю ганглиозидов—G_{m1}, G_{D1a}, G_{D1b} и G_{T1} [10, 27], оставшиеся 10% составляют минорные ганглиозиды (G_{m2}, G_{m3}, G_{m4}, G_{D2}, G_{D3}, G_Q) [19]. Ганглиозиды, имеющие пентагексозилцерамидную структуру за счет добавления N-ацетилгалактозаминна и фукозы, составляют 0,09—0,6% от общих ганглиозидов мозговых [15]. Минорные количества этих соединений не лишают их биологической значимости. Встраивание их в мембрану существенно модифицирует поверхность. Таким образом, информационные возможности ганглиозидов огромны, они могут определять специфичность клеточной поверхности, а каждый индивидуальный ганглиозид может иметь специфические функции как рецептор, поверхностный маркер или компонент липидного матрикса.

Убедительно доказано, что индивидуальные ганглиозиды с высокой избирательностью связывают гормоны [28—30], медиаторы [31], токсины, вирусы, интерферон [32, 33]. Сам процесс связывания сложен и включает конформацию рецептора, его ближайших мембранных компонентов и самого агониста, а также способствует его проникновению через мембрану. Пока не доказано взаимодействие ганглиозидов с нейропептидами, но можно предсказать появление таких фактов в самое ближайшее время.

Организация ганглиозидов в мембране. Участие ганглиозидов в рецепции самых различных внешних агентов обусловлено прежде всего их четкой локализацией и ориентацией в мембране. Доказана асимметричная ориентация молекул ганглиозидов, их олигосахаридная часть вынесена на поверхность и обращена в синаптическую щель [7, 34]. Молекулы ганглиозидов не подвержены «флип-флопу», но способны к латеральной диффузии с широко варьирующей скоростью. Можно предположить, что ганглиозиды так же, как гликопротеины, могут совершать вертикальные осцилляции с различной частотой. Несмотря на большую подвижность гликолипидов и гликопротеинов, ядро и цитоплазма предохраняют поверхность от хаотического распределения компонентов [35].

Церамидная часть молекулы ганглиозидов внедрена в двухслойный липидный матрикс, где она гидрофобно взаимодействует с фосфолипидами и интегральными белками мембраны. Увеличение числа углеродных атомов и ненасыщенности сфингозина, изменение природы жирной кислоты ганглиозидов вызывают конформационные изменения в близлежащих гидрофобно с ними связанных белках. В силу большей, чем у фосфолипидов, гидрофобности углеводородных цепочек ганглиозиды увеличивают жесткость билипидного слоя. Существует определенная степень подвижности углеводородных скелетов на различной

глубине двойного липидного матрикса. Наименее гибким в церамидной части ганглиозидов является участок углеводородного скелета, примыкающий к поверхности. Наибольшая подвижность свойственна зоне, ближайшей к середине двойного липидного слоя [36, 37].

Строение церамидной части определяет место локализации и глубину погружения индивидуальных ганглиозидов в гидрофобную часть билипидного слоя, то есть степень их вертикальной экспонированности. Размещение одинаковых по олигосахаридной структуре индивидуальных ганглиозидов в разные локусы мембраны является поэтому одним из способов модификации поверхности. Церамидная часть обеспечивает строго определенный состав фосфолипидно-холестерин-белкового окружения индивидуальных ганглиозидов и предопределяет специальную роль каждого индивидуального ганглиозида в опознавательных и рецепторных и информационно-контролирующих механизмах клетки.

Модификация поверхности межклеточным гликозилированием.

Разная экспонированность в синаптическую щель будет приводить к различной доступности гликозилированных липидов как внешним агентам, так и ферментам, осуществляющим межклеточное гликозилирование. В выяснении молекулярных механизмов формирования синаптических контактов и устойчивых ансамблей нейронов имеется много пробелов. Контактное гликозилирование, как предполагаемый механизм модификации клеточной поверхности, в нейрональных мембранах может быть особенно значимым, так как образование синапсов является узнаванием самого высокого порядка. При клеточном контакте модификация мембран может осуществляться межклеточным гликозилированием поверхностных гликолипидов и гликопротеинов [38]. Полагают, что гликозилтрансферазы одной клеточной поверхности удлиняют, надстраивают (гликозилируют) олигосахаридные цепочки гликолипидов и гликопротеинов соседней, противоположной поверхности. Доказано, что контактное гликозилирование останавливает пролиферацию (так называемое контактное ингибирование роста). Трансформированные клетки из-за измененной архитектуры поверхности не способны к межклеточному транс-гликозилированию. На поверхности трансформированных клеток субстраты и ферменты сближены, и клетки осуществляют цис-гликозилирование, то есть гликозилируют субстрат своей же собственной поверхности независимо от контакта (рис. 2) [39]. Неспособность к контактному гликозилированию белков и липидов соответствует степени злокачественности клеток. Клетки, лишённые контактного ингибирования и гликозилирования, характеризуются наивысшей склонностью к злокачественному перерождению.

Возможная роль гликозилирования в синаптической области согласуется с концепцией об участии сialogликомакромолекул в синаптической передаче и формировании памяти. Полагают, что введение сialogликомакромолекул в контактные зоны является молекулярной основой формирования определенных нейрональных путей, которые

могут морфологически коррелировать с энграммой. Допускают, что образование комплекса Ca^{2+} —ганглиозиды «закрывает», а диссоциация этого комплекса «открывает» пресинаптические области [40]. Доказано, что Ca^{2+} препятствует образованию субстрат-ферментного комплекса между ганглиозидами и гликозилтрансферазами, а вытеснение его другими ионами способствует межклеточному гликозилрованию.

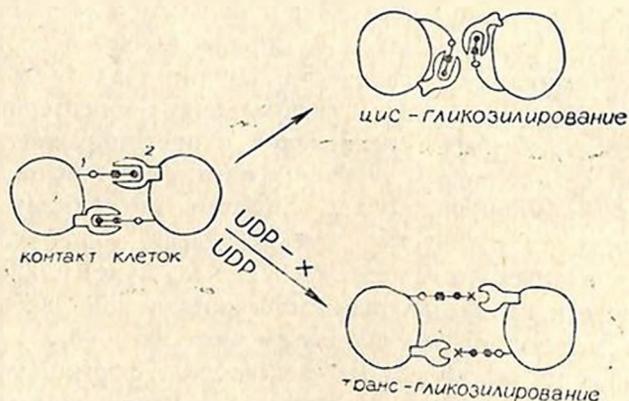


Рис. 2. Межклеточное гликозилрование при клеточном контакте [39]:
1—молекулы гликолипидов, 2—гликозилтрансферазы

Соединения, выполняющие структурные и информативные функции, переносятся на клеточную поверхность со скоростью, необходимой для изменения активности этой поверхности. По мере формирования нейрональных мембран, микронейрональных внутренних связей и синаптических контактов увеличивается общее количество ганглиозидов и изменяется спектр преобладающих индивидуальных ганглиозидов [41—43]. Индивидуальные ганглиозиды с разной скоростью синтезируются в телах нервных клеток и посредством быстрого аксонального тока [44] в разное время встраиваются в синаптические мембраны. Появление индивидуальных ганглиозидов в синаптических мембранах будет определять направленность и интенсивность модификации поверхности межклеточным гликозилрованием.

В цитозоле нервных окончаний присутствуют растворимые ганглиозидпереносящие белки [45], поэтому ганглиозиды движутся в аксональном токе как ганглиозид-белковые комплексы. Пока неизвестно о специфичности этих белков по отношению к индивидуальным ганглиозидам и об их синтезе в цитозоле. Синтез ганглиозидов требует посредничества нескольких гликозилтрансфераз и сиалилтрансфераз, параллельная активность которых будет определять окончательный результат. В процессе синаптогенеза повышается активность ряда сиалилтрансфераз, причем индивидуальные ганглиозиды оказывали существенно различное влияние на их активность [46]. Поскольку в гликопротеинах имеются олигосахаридные последова-

тельности, аналогичные гликолипидным [47], может происходить конкуренция субстратов за взаимодействие с одними и теми же ферментами. Однако установлено, что в развивающемся мозгу больше гликолипидных акцепторов N-ацетилнейраминной кислоты, и активность спалилтрансфераз с ними выше, чем с гликопротеинами [48].

В цитозоле нейронов локализована очень активная нейраминидаза, которая модулирует содержание N-ацетилнейраминной кислоты в ганглиозидах до их включения в синаптическую мембрану [49]. Существуют белковые активаторы гликозидаз [50]; частичная деградация ганглиозидов может происходить не в лизосомах и не лизосомальными ферментами, а на поверхности клетки. Поэтому различная компартиментализация ферментов метаболизма ганглиозидов служит дополнительным фактором, определяющим строгую очередность присоединения или устранения отдельных компонентов молекулы, а также появление этих сложных макромолекул на поверхности. Встраивание ганглиозидов в нативные мембраны меняет их адгезивность, архитектуру поверхности, ориентацию и экспонированность рецепторов [51].

Межмолекулярные взаимодействия ганглиозидов. Гликолипиды выполняют свои функции на поверхности в полимолекулярных ансамблях с гликопротеинами и рецепторными белками. Модификация структуры ганглиозидов безусловно будет изменять межмолекулярные взаимодействия с окружающими молекулами поверхности. Конформация ганглиозидов определяет межмолекулярные взаимодействия, но конформация ганглиозидов ни в водных растворах, ни в твердом состоянии не изучена. Установлено, что на взаимодействия олигосахаридной части ганглиозидов не влияет состояние липидного слоя. Олигосахаридные цепочки ганглиозидов имеют заметную тенденцию к кооперативному взаимодействию друг с другом [52]. Молекулы ганглиозидов удерживаются друг возле друга за счет водородных связей и перекрестного взаимодействия полярных (чаще всего карбоксильных) групп с ионами двухвалентных металлов. Кооперативное взаимодействие ганглиозидов приведет к неравномерному распределению их на поверхности. В месте скопления резко увеличится соотношение ганглиозидов к фосфолипидам, что вызовет локальное изменение супрамолекулярной организации мембраны. Возникнет специфическая ситуация: жидкостность в этих участках мембраны будет ниже, чем повсюду, а скопления ганглиозидов будут иметь максимальную нестабильность из-за отталкивания отрицательно заряженных молекул N-ацетилнейраминной кислоты. В то же время потенциал в этих участках будет максимальным из-за большой локальной плотности молекул нейраминной кислоты. Такие участки будут иметь повышенное сродство к гидрофильному взаимодействию с экзогенными лигандами. Области, свободные от ганглиозидов, будут осуществлять гидрофобное взаимодействие с лигандами другой природы. Оба рода взаимодействия, вызывая кооперативные и некооперативные структурные перестройки в мембране, будут оказывать влияние на цитоплазму и ядро.

Определенные агенты (антитела и поливалентные лиганды), взаимодействуя с олигосахаридными цепочками поверхностного матрикса, вызывают агрегацию ганглиозидов и гликопротеинов в группы, кластеры, полюса. Причем один и тот же агент может агрегировать ганглиозиды в кластеры, а гликопротеины—в полюса. Степени агрегации и модификации поверхности зависят от характера взаимодействия олигосахаридных структур с этими агентами. Такая агрегация ганглиозидов и гликопротеинов в поверхностном матриксе важна для поддержания контактов между клетками, так как локализованные конгломераты рецепторов обеспечивают более устойчивые контакты, чем рецепторы случайно или дисперсно разбросанные по поверхности. Подобные агрегаты гликолипидов и гликопротеинов будут содержать одинаковые или различные рецепторы, или содержать один рецептор, но в виде гликопротеина и гликолипида. Так, для связывания тиреотропного гормона требуется сочетание гликопротеинового и гликолипидного компонентов, которые независимо друг от друга не связывают тиреотропин [31].

Самоагрегация и молекулярная сегрегация ганглиозидов в синаптических мембранах могут осуществляться без воздействия внешних агентов, только за счет мицеллообразования. Ганглиозидам—растворимым амфифилам—присуща способность спонтанно образовывать мицеллы, причем критическая концентрация мицеллообразования очень низка [53]. Содержание в ганглиозидах C_{20} -сфингозина является детерминирующим фактором мицеллообразования. Изменение отношения C_{18}/C_{20} -сфингозинов существенно сказывается на агрегационных характеристиках ганглиозидов. Напротив, увеличение числа молекул нейрамининовой кислоты в ганглиозидах вызывает падение агрегационного числа [54]. Более полярные ганглиозиды стабилизируются в нейрональной мембране увеличением пропорции C_{20} -сфингозина, который найден только в ганглиозидах нейрональных мембран [55] и появляется в них по мере формирования синаптических структур [56]. Состав сфингозиновых оснований и число молекул *N*-ацетилнейрамининовой кислоты определяет размер мицелл, а форма их зависит от числа углеродных атомов в алкильной цепочке и числа этих цепочек в мицелле. Число алкильных цепочек в ганглиозидной мицелле колеблется от 240—для мельчайшей мицеллы (G_{T1}) до 500—для наибольшей ($G_{M1} - G_{T1}$). Ганглиозиды, имеющие в своем составе углеводородные цепочки с 18—20 атомами углерода и большую олигосахаридную головку, образуют эллипсоидную мицеллу, которая обеспечивает оптимальное отношение поверхности к числу входящих мономеров. Варьирующая длина алкильных цепочек, в частности сфингозина, компенсирует различие в полярности и ионном характере из-за увеличения числа молекул нейрамининовой кислоты и создает равновесие между ассоциацией и диссоциацией мицеллы. Этот процесс будет приводить либо к равномерному ганглиозидному матриксу в мембранном ансамбле, либо, в случае большей жидкости мембраны, обеспечивать агрегацию ганглиозидов.

Механизм биосинтетического контроля оперирует, по-видимому, так, чтобы обеспечить набор ганглиозидных молекул, чьи физико-химические свойства приводят к самоагрегации и молекулярной сегрегации ганглиозидов в синаптических мембранах. Мицеллы ганглиозидов подвергаются самоагрегации и образуют агрегаты с большим молекулярным весом [57]. Пока неизвестно, состоят ли такие агрегаты, как и сами мицеллы, из одного типа ганглиозидов или включают индивидуальные ганглиозиды в разных соотношениях. Тогда на поверхности могут возникать области гомогенных или гетерогенных скоплений ганглиозидов. Как уже отмечалось, увеличение локальной плотности ганглиозидов, не нарушая бислоидной организации липидного матрикса, существенно модифицирует поверхность. Локусы мембран, занятые ганглиозидными мицеллами, будут отличаться большей лабильностью и способностью к регуляции.

Сохранению бислоидной структуры мембраны в присутствии ганглиозидных мицелл способствует взаимодействие ганглиозидов с фосфолипидами, холестерином, белками. Установлено, что ганглиозиды образуют с фосфолипидами смешанные мицеллы, тип которых зависит от соотношения между ганглиозидами и фосфолипидами [11]. В синаптических мембранах благодаря обогащенности ганглиозидами и их асимметричной локализации отношение ганглиозидов к фосфолипидам составляет 0,25—0,20 и благоприятствует образованию смешанных мицелл. На супрамолекулярную организацию таких смешанных мицелл большое влияние оказывают Ca^{2+} , рН, ионная сила, температура, причем липосомы включают ганглиозиды, включения же фосфолипидов в ганглиозидные мицеллы не происходит [58]. Следует подчеркнуть, что в отличие от искусственных детергентов ганглиозиды не вызывают лизис фосфолипидных везикул.

Гидролиз ганглиозидов эффективнее всего осуществляется из уннламельлярных везикул фосфатидилхолина и сфингомиелина, слабее из мультламеллярных липосом и совсем медленно из чистых ганглиозидных мицелл [59, 60]. Если гидролиз молекулы ганглиозидов будет начинаться с отщепления нейраминной кислоты, то способ организации ганглиозидов в мембране существенно скажется на наличии отрицательного заряда этих молекул.

Модификация поверхности изменением заряда ганглиозидов. Ганглиозиды несут большой отрицательный заряд, обусловленный свободной карбоксильной группой N-ацетилнейраминной кислоты. Хотя гликопротеины также содержат нейраминную кислоту, но большая ее доля в синаптических мембранах принадлежит ганглиозидам. Наличие отрицательного заряда открывает возможности для модификации поверхности через модулирование заряда ганглиозидов. В этом процессе особая роль принадлежит ферментам—нейраминидазе и сиалилтрансферазам. Они определяют присутствие и число молекул N-ацетилнейраминной кислоты в ганглиозидах и через цикл сиалирование—десиалирование фактически определяют отрицательный заряд поверхности [11, 43, 48]. Синаптические мембраны, вероятно, подвергаются по-

стоянному де- и ресалированию, и скорость этих процессов определяет функциональную активность мембран. Сялилтрансферазы и нейраминидаза находятся на поверхности синаптических мембран, там же, где их субстраты, и являются внутренними компонентами синаптической области [61—63]. В синаптосомальных мембранах ганглиозиды, нейраминидаза и сялилтрансферазы составляют соответственно 52, 65 и 40% от общего содержания их в мозгу [27], причем эти мембраны содержат в 5—6 раз больше ганглиозидов и в 6.5 раза больше нейраминидазы, чем другие плазматические мембраны мозга [9]. Синаптосомальные мембраны отличаются функционально от других плазматических мембран мозга своей приспособленностью к нейротрансмиссии. Биохимическая корреляция такой функциональной специализации заключается в обогащенности этих мембран ганглиозидами и ферментами, способными изменять соотношение нейраминовой кислоты и ганглиозидов.

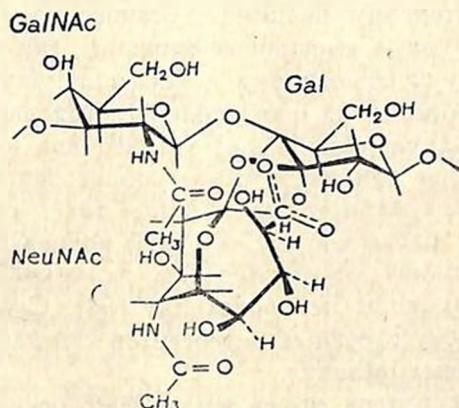


Рис. 3. Образование «кислородной клетки» близлежащими молекулами галактозы, N-ацетилгалактозаминна и N-ацетилнейраминовой кислоты, которая защищает гликозидную связь от нейраминидазы [67]

Действие нейраминидазы не следует рассматривать как деструктивный процесс, скорее оно выполняет регуляторную функцию и запускает или, наоборот, прерывает некоторые биохимические реакции. Предпочтительным субстратом действия нейраминидазы являются высшие тетра-, три- и дисialogанглиозиды, которые обогащают липидную часть пресинаптической мембраны. Еще предстоит оценить количество изоэнзимных форм нейраминидазы синаптических мембран и охарактеризовать их субстратную специфичность [64]. Необходимо отметить, что 25—35% нейраминовой кислоты поверхности мембран устойчиво к действию нейраминидазы. Присутствие на экстеральной поверхности синаптических мембран сялилтрансфераз делает конкурентные отношения между этими ферментами очень сложными. Оптимальная активность сялилтрансфераз наблюдается при нейтральных значениях pH, а нейраминидазы—при pH 4.0—4.5, их активность

может регулироваться локальным изменением pH. Эти ферменты являются гликопротеинами, свойственные им латеральная подвижность и взаимодействие с окружающими молекулами могут удалять или сближать их с субстратами. С одной стороны, фазовые переходы и структурные перестройки в мембране могут изменять конформацию активного центра этих ферментов. С другой стороны, организация ганглиозидов в мембране, внутри- и межмолекулярные их взаимодействия оказывают сильное влияние на активность сиалилтрансфераз и нейраминидазы. Нейраминидаза в 50 раз активнее отщепляет N-ацетилнейраминную кислоту из смешанных с фосфолипидами мицелл, чем из гомогенных мицелл [59, 65]. Видимо, гликозилгидролазы и сиалилтрансферазы могут действовать на ганглиозиды только в бислойной структуре при определенной ориентации субстрата [66].

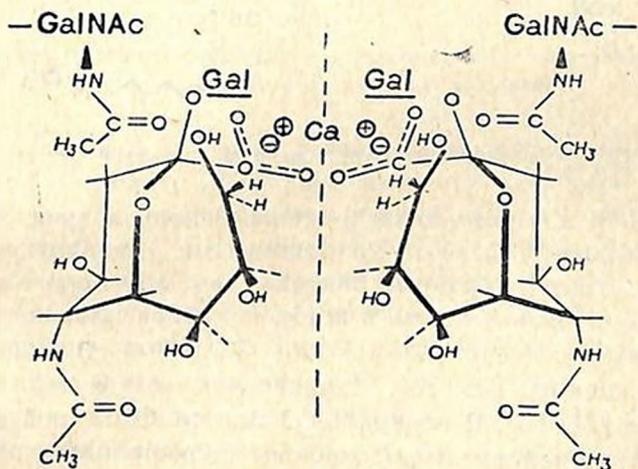


Рис. 4. Образование комплекса между Ca^{2+} и карбоксильными группами молекул ганглиозидов [80]

Кроме формы связи N-ацетилнейраминной кислоты, в ганглиозидах на модулирование поверхностного заряда существенное влияние оказывает конформация самой кислоты и ее ближайших компонентов. Отщеплению нейраминной кислоты препятствует соседний N-ацетилгалактозамин. Методом ЯМР был выявлен анизотропный эффект N-ацетилгалактозаминна, вызывающий сдвиг C_2 - и C_3 -атомов нейраминной кислоты [67]. В силу этого гликозидный кислород нейраминной кислоты вместе с другими атомами, включающими и карбонильный кислород N-ацетилгалактозаминна, лежит как бы «в кислородной клетке» (рис. 3). Такая конфигурация атомов вокруг гликозидной связи защищает ее от действия фермента. Иная картина наблюдается с ганглиозидами, лишенными N-ацетилгалактозаминна. Нейраминная кислота недоступна ферментам, когда карбоксильные группы близлежащих ганглиозидов соединены Ca^{2+} (рис. 4). В этом случае затруднено не только устранение N-ацетилнейраминной кислоты, но и присоединение дополнительного числа ее сиалилтрансферазами.

Между карбоксильной группой N-ацетилнейраминной кислоты и ее гидроксильными группами могут возникать внутримолекулярные взаимодействия, приводящие к образованию лактонов—внутренних сложных эфиров. В образовании лактонов могут быть включены гидроксилы у 4, 7, 8 и 9 атомов углерода нейраминной кислоты, кроме того, они могут возникать с участием гидроксильных групп соседней га-

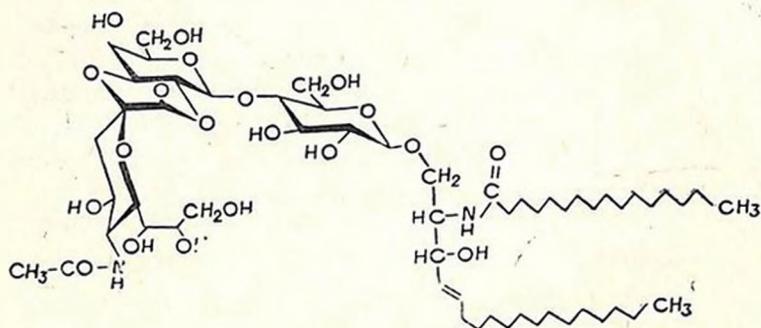


Рис. 5. Структура моносиалоганглиозида в лактонной форме [68]

лактозы, приводя к образованию 6-членного кольца (рис. 5) [68]. Молекулы нейраминной кислоты, находящиеся в димерной (2—8) связи, в ганглиозидах также образуют лактоны, по структуре аналогичные лактонам коломиновой кислоты, в которой карбоксильная группа одной молекулы связана с гидроксильной группой 7 или 9 атомов углерода соседней нейраминной кислоты [69, 70]. Наличие лактонов в ганглиозидах мозга установлено [71, 72]. В нейтральной или слабо кислой среде терминальная молекула нейраминной кислоты полисиалоганглиозидов спонтанно образует лактон, а в более кислой среде это образование затрагивает и другие молекулы нейраминной кислоты. Установлено, что Ca^{2+} предотвращает образование лактонов в терминальных нейраминных кислотах ганглиозидов.

Безусловно, что конформация N-ацетилнейраминной кислоты в ганглиозидах будет определять структуру лактонов. Методом C_{13} -ЯМР-спин решеточной релаксации установлена конформация нейраминной кислоты в моносиалоганглиозидах (рис. 6) и обнаружено наличие водородной связи между водородом у C_4 -атома и карбоксильной группой ацетила у C_5 -атома [73]. Такая конформация нейраминной кислоты оставляет доступными для образования лактонов гидроксильные группы у C_8 - и C_9 -атомов. Можно предположить, что конформация нейраминных кислот в ди-, три-, тетра- и пентасиалоганглиозидах будет предоставлять другие гидроксилы для образования лактонов. Ганглиозиды, имеющие нейраминную кислоту в лактонной форме, обладают иными физико-химическими свойствами, они нейтральны. Поэтому образование лактонов является процессом, изменяющим заряд молекулы,

и примером модификации одного компонента, приводящей к изменению информационной емкости всей сложной молекулы ганглиозидов.

Ацелирование ганглиозидов. В структуре нейраминной кислоты очень важна боковая полигидроксильная группировка, уникальная среди олигосахаридных компонентов поверхности и похожая на глицериновую часть молекулы фосфолипидов. Эта полигидроксильная группировка может быть дополнительно ацелирована и, возможно, метилирована. В природе известно несколько производных O-ацетилнейраминных

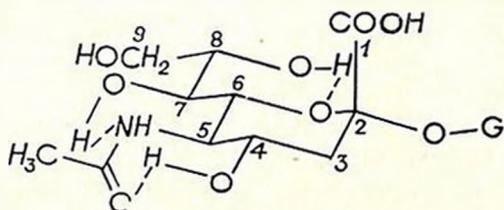


Рис. 6. Схематическое изображение конформации N-ацетилнейраминной кислоты в ганглиозидах (пунктиром указаны водородные связи) [73]

кислот (рис. 7). Были обнаружены ганглиозиды, содержащие N-О-диацетилнейраминную кислоту [71]. Возможно, что конформация N-ацетилнейраминной кислоты в различных индивидуальных ганглиозидах может предоставлять для O-ацелирования OH-группы у 4, 7, 8 и 9 атомов углерода. Пока неизвестно, происходит ли O-ацелирование ферментативно или нет и что является источником ацетила. Можно предположить, что модификация ганглиозидов достигается дополнительным ацелированием и переносом ацетила из одного положения в другое. Модификация структуры ганглиозидов ацелированием менее громоздка, чем процесс отщепления и присоединения молекулы нейраминной кислоты и, видимо, используется для потребностей мгновенной модификации. Появление лишних ацетильных групп изменит структуру и конформацию нейраминной кислоты и ее внутри- и межмолекулярные взаимодействия. Ацелирование нейраминной кислоты может играть роль в контроле устранимости ее из ганглиозидов, поскольку O-ацелированные ганглиозиды устойчивы к действию гликозидаз [74]. Введение дополнительных групп в нейраминную кислоту делает ее менее доступной синалитрансферазам и, конечно, изменит взаимодействие с ионами металлов. В связывании металлов принимает участие не только карбоксильная группа, но и глицеринподобная часть нейраминной кислоты [75, 76]. Причем замещение OH-группы в полигидроксильной части резко меняет способность нейраминной кислоты связывать металлы [77]. Таким образом, ацелирование ганглиозидов так же, как и взаимодействие с металлами, может считаться одним из вариантов модулирования заряда поверхности. Кроме того, ацелирование резко увеличивает структурное разнообразие индивидуальных ганглиозидов (например, пентасилоганглиозиды имеют по 5 молекул N-ацетилнейраминной кислоты и в каждой 4—5 положений для дополнительного

ацетилирования). Участки поверхности, занятые ацетилированными ганглиозидами, будут иметь иные архитектуру и опознавательные свойства.

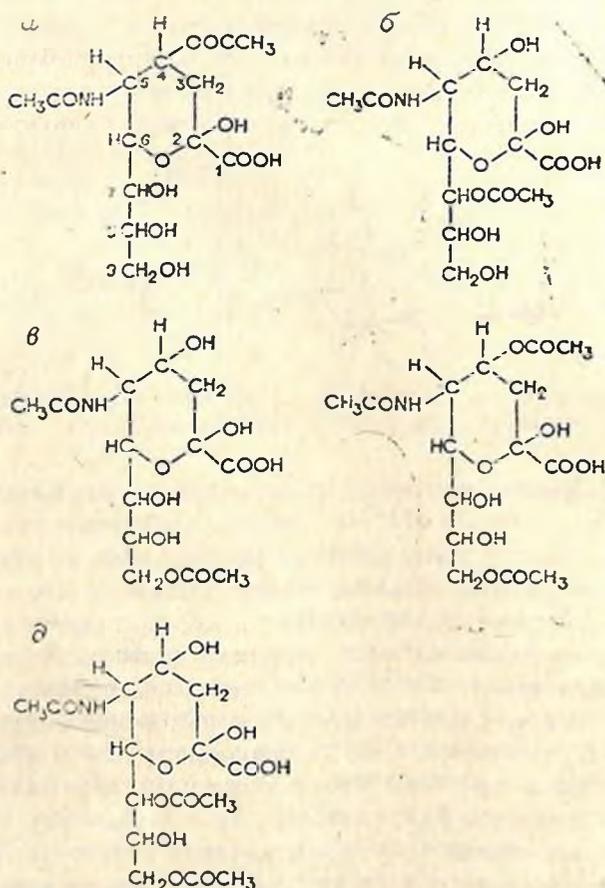


Рис. 7. Структуры O-ацетил производных нейраминной кислоты: а—N-ацетил-4-O-ацетилнейраминная кислота; б—N-ацетил-7-O-ацетилнейраминная кислота; в—N-ацетил-9-O-ацетилнейраминная кислота; г—N-ацетил-4,9-ди-O-ацетилнейраминная кислота

В настоящее время считают, что N-ацетилнейраминная кислота выполняет антиадгезивную роль в гликоконъюгатах поверхности, маскируя специальные рецепторные стороны. Появление O-ацетилнейраминных кислот в ганглиозидах увеличивает их антиадгезивные свойства. Баланс между сиало- и асиалоганглиозидами определяет адгезию и узнавание клеток. Специфическое присоединение нейраминной кислоты к рецепторам является одним из механизмов, каким клетка модулирует свой потенциал узнавания и изменяет свое поведение.

Полифункциональная роль ганглиозидов на поверхности возбудимых мембран, требующая от них способности к тончайшим модифика-

циям структуры, заставляет подчинить выполнению функций не только структуру, но и метаболизм молекулы. Индивидуальные ганглиозиды мембран обладают различной скоростью обмена как всей молекулы, так и ее компонентов: N-ацетилгалактозаминна и N-ацетилнейраминной кислоты [78]. Более того, обмен O-ацетилнейраминной кислоты ганглиозидов мозга [79], что подтверждает большие возможности для вариаций метаболизма керамидной и олигосахаридной частей этих сложных сиалогликомолекул.

Таким образом, ганглиозиды, являясь опознаваемыми и узнающими молекулами мембран, вносят существенный вклад в модификацию их поверхности. Они несут многочисленные отрицательные заряды, образуя поверхностный анионный слой, с выраженным сродством к катионам. Все структурные изменения ганглиозидов за счет гликозилирования, ре- и десалирования, ацетилирования, образования лактонов и взаимодействия с ионами, гликопротеинами, фосфолипидами и белками влияют, прежде всего, на их заряд и затрагивают электрогенную природу мембран. Сочетание необычайной структурной пластичности с электрогенностью и способностью к узнаванию других молекул делает эти уникальные соединения ответственными за проведение нервного импульса в нейронах.

PARTICIPATION OF GANGLIOSIDES IN THE MODIFICATION OF NEURONAL MEMBRANES

TUMANOVA S. Yu., PROKHOROVA M. I.

Laboratory of Neurochemistry, Institute of Physiology, State University, Leningrad

The role of gangliosides in the modification of neuronal membranes is reported. The alteration of gangliosides structure by glycosylation, re- and desialylation, acetylation, formation of lactones and their intermolecular interactions with glycoproteins and phospholipids are discussed.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Poste G., Nicolson G. L. Dynamic aspects of cell surface organization. Elsevier, North-Holland, Amsterdam, 1977.
2. Jones B. M. Biol. Rev. 55, 207—235, 1980.
3. Конеv С. В., Мажуль В. М. Межклеточные контакты, Минск, Наука и техника, 1977.
4. Дьюкар Э. Клеточные взаимодействия в развитии животных, М., Мир, 1978.
5. Hynes R. O. Surface of normal and malignant cell. N. Y., J. Wiley, 1979.
6. Аврова Н. Ф., Ченyкаева Е. Ю., Обухова Е. Л. J. Neurochem. 20, 4, 1973.
7. Critchley D. R., Vicker M. G.—In: Dynamic aspects of cell surface organization (Eds. Poste G., Nicolson G. L.), 307—370, Elsevier, Amsterdam, 1977.
8. Hansson H. A., Holmgren J., Svennerholm L. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 3782—3786, 1977.
9. Ledeen R. W. J. Supramol. Struct. 8, 1—17, 1978.
10. Svennerholm L. Adv. Exptl. Med. Biol., 125, 533—544, 1980.
11. Tettamanli G., Preti A., Cestaro B., Venerando B., Lombardo A., Ghidoni R., Sonnino S. Adv. Exptl. Med. Biol. 125, 263—281, 1980.

12. Wiegandt H. *Adv. Exptl. Med. Biol.* **125**, 3—10, 1980.
13. Klenk E., Gielen W. *Z. Physion. Chem.* **332**, 162—165, 1963.
14. Booth D. A., Goodwin H., Cumings J. N. *J. Lipid. Res.* **7**, 337—340, 1966.
15. Jwamori M., Nagai J. *Biochem.* **86**, 1601—1608, 1978.
16. Ghidoni R., Sonnino S., Tettamanti G., Wiegandt H., Zambotti V. *J. Neurochem.* **27**, 511—515, 1976.
17. Li Y. T., Mansson J. E., Vanier M. T., Svennerholm L. *J. Biol. Chem.* **248**, 2634—2636, 1973.
18. Hirabayashi Y., Takl T., Matsumoto M. *FEBS Lett.* **100**, 253—257, 1979.
19. Svennerholm L., Mansson J. E., Li Y. T. *J. Biol. Chem.* **248**, 740—742, 1973.
20. Sonnino S., Ghidoni R., Galli G., Tettamanti G. *J. Neurochem.* **31**, 947—956, 1978.
21. Ishizuka I., Wiegandt H. *Biochim. Biophys. Acta.* **260**, 279—289, 1972.
22. Ando S., Yu R. K. *J. Biol. Chem.* **252**, 6247—6250, 1977.
23. Yu R. K., Ando S. *Adv. Exptl. Med. Biol.* **125**, 33—45, 1980.
24. Yu R. K., Ando S. *Trans. Amer. Soc. Neurochem.* **9**, 135, 1978.
25. Ando S., Yu R. K. *Proc. Intern. Soc. Neurochem.* **6**, 535, 1977.
26. Ando S., Yu R. K. *J. Biol. Chem.* **254**, 12224—12229, 1979.
27. Tettamanti G., Prati A., Lombardo A., Bonati F., Zambotti V. *Biochim. Biophys. Acta.* **305**, 466—477, 1973.
28. Lee G., Aloj S. M., Brady R. O., Kohn L. D. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **73**, 370—377, 1976.
29. Lee G., Aloj S. M., Kohn L. D. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **77**, 434—441, 1977.
30. Kohn L. D., Consiglio E., De Wolf M. J. S., Crollman E. F., Ledley F. D., Lee G., Morris N. P. *Adv. Exptl. Med. Biol.* **125**, 487—503, 1980.
31. Woolley D. W., Gommi B. W. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **53**, 959—963, 1965.
32. Holmgren J., Ekwing H., Fredman P., Stannegård O., Svennerholm L. *Adv. Exptl. Med. Biol.* **125**, 453—470, 1980.
33. Vengris V. E., Fermie B. F., Pitha P. M. *Adv. Exptl. Med. Biol.* **125**, 479—486, 1980.
34. Nicolson G. L. *Biochim. Biophys. Acta.* **457**, 57—108, 1976.
35. Nicolson G. L. *Biochim. Biophys. Acta.* **458**, 1—72, 1976.
36. Sharom F. J., Grant C. W. M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **74**, 1039—1045, 1977.
37. Sharom F. J., Grant C. W. M. *J. Supramol. Structure.* **6**, 249—259, 1977.
38. Roseman S., *Chem. Phys. Lipids.* **5**, 270—297, 1970.
39. Roth S., White D. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **69**, 485—489, 1972.
40. Rahman H., Rösner H., Breer H. J. *Theor. Biol.* **57**, 231—237, 1976.
41. Hess H. H., Bass N. H., Thalheimer C., Devarakonda R. *J. Neurochem.* **26**, 1115—1122, 1976.
42. Yusuf H. K. M., Merat A., Dickerson J. W. T. *J. Neurochem.* **28**, 1299—1304, 1977.
43. Dreyfus H., Horth S., Yusufi A. N. K., Urban P. F., Mandel P. *Adv. Exp. Med. Biol.* **125**, 227—237, 1980.
44. Ledeen R. W., Skrivanek J. A., Tirri L. J., Margolis R. K., Margolis R. U.—In: *Ganglioside function. Biochemical and pharmacological implications.* Eds. Porcellati G., Ceccerelli B., Tettamanti G. 83—104. Plenum Press, N. Y., London, 1976.
45. Sonnino S., Ghidoni R., Marchesini S., Tettamanti G. *J. Neurochem.* **33**, 117—122, 1979.
46. Rebel G., Robert J., Mandel P. *Adv. Exptl. Med. Biol.* **125**, 159—166, 1980.
47. Rauvala H., Finne J. *FEBS Lett.* **97**, 1—8, 1979.
48. Dain J. A., Ng S. S. *Adv. Exptl. Med. Biol.* **125**, 239—245, 1980.
49. Venerando B., Preti A., Lombardo A., Cestaro B., Tettamanti G. *Biochim. Biophys. Acta.* **527**, 17—30, 1978.

50. Sandhoff K., Conzelman E. Trends Biochem. Sci. 4, 231—233, 1979.
51. Barrat D. G., Rogers J. D., Sharom F. J., Grant C. W. M. J. Supramol. Structure 8, 119—129, 1979.
52. Sharom F. J., Grant C. W. M. Biochim. Biophys. Acta. 507, 280—293, 1978.
53. Formisano S., Johnson M. L., Lee G., Aloj S. M., Edelhodt H. Biochemistry. 18, 1119—1124, 1979.
54. Yohe H. C., Roark D. E., Rosenberg A. J. Biol. Chem. 251, 7083—7088, 1976.
55. Sambasivarao K., McCluer R. H. J. Lipid. Res. 5, 103—108, 1964.
56. Vanler M. T., Holm M., Ohman R., Svennerholm L. J. Neurochem. 18, 581—592, 1971.
57. Corti M., Degiorgio V., Ghidoni R., Sonnino S., Tettamanti G. Chem. Phys. Lipids. 26, 225—238, 1980.
58. Barenholz Y., Cestaro B., Lichtenberg D., Frelze E., Thompson T. E., Gatt S. Adv. Exptl. Med. Biol. 125, 105—123, 1980.
59. Catt S., Gazit B., Cestaro B., Barenholz Y. Adv. Exptl. Med. Biol. 125, 135—146, 1980.
60. Cestaro B., Barenholz Y., Gatt S. Biochemistry. 19, 615—619, 1980.
61. Shur B. D., Roth S. Biochim. Biophys. Acta. 415, 473—512, 1975.
62. Rosenberg A. Adv. Exptl. Med. Biol. 101, 439—446, 1978.
63. Pretl A., Florilli A., Venerando B. The Ital. J. Biochem. 28, 314—315, 1979.
64. Pallmann B., Sandhoff K., Berra B., Niyatake T. Adv. Exptl. Med. Biol., 125, 401—414, 1980.
65. Tettamanti G., Venerando B., Cestaro B., Pretl A.—In: Ganglioside function. Biochemical and pharmacological implications. 65—82. Eds. Porcellati G., Ceccarelli B., Tettamanti G. Plenum Press, N. Y., London, 1976.
66. Curatolo W., Small D. M., Shibley G. G. Biochim. Biophys. Acta. 468, 11—20, 1977.
67. Harris P. L., Thornton E. R. J. Am. Chem. Soc. 100, 6738—6745, 1978.
68. McCluer R. H., Evans J. E. Adv. Exp. Med. Biol. 19, 95—102, 1972.
69. McGutre E. J., Binkley S. B. Biochemistry. 3, 247—251, 1964.
70. Wiegandt H. Rev. Physiol. Biochem. Exp. Pharmacol. 57, 190—222, 1966.
71. Freedman P. Adv. Exptl. Med. Biol. 125, 23—31, 1980.
72. Urban P. F., Harth S., Freysz L., Dreyfus H. Adv. Exptl. Med. Biol. 125, 149—157, 1980.
73. Czarniecki M. T., Thornton E. R. J. Am. Chem. Soc. 99, 25, 8273—8279, 1977.
74. Li Y. T., King M. J., Li S. C. Adv. Exptl. Med. Biol. 125, 93—104, 1980.
75. Behr J. P., Lehn J. M. FEBS Lett. 22, 178—180, 1972.
76. Behr J. P., Lehn J. M. FEBS Lett. 31, 257—300, 1973.
77. Jaques L. W., Brown E. B., Barrett J. M., Brey W. S., Wettner W. J. Biol. Chem. 252, 4533—4538, 1977.
78. Прохорова М. И., Беспалова М. А., Мухина А. П., Туманова С. Ю. Вопросы биохимии мозга, Изд-во АН АрмССР, 10, 182—186, 1975.
79. Туманова С. Ю., Варганян Н. Л. Тезисы II Всесоюзного симпозиума «Липиды биологических мембран», 127—128, Ташкент, 1980.
80. Schauer R., Veh R. W., Sander M., Corfield A. P., Wiegandt H. Adv. Exptl. Med. Biol. 125, 283—294, 1980.

Лаборатория биохимии нервной системы
Физиологического института им. А. А. Ухтомского Ленинградского университета

Поступила 16. XI 1981