



УДК 547.952 : 616.832—002—056.43—092

**ГЛИКОЛИПИДЫ В МОЗГУ СОБАК ПРИ АЛЛЕРГИЧЕСКОЙ
ДЕМИЕЛИНИЗАЦИИ**

МЕНДЖЕРЩИКИН А. М., КИРОЙ Р. И., ВЯЛКОВ Г. А.

ЦНИЛ государственного медицинского института, Ростов-на-Дону

Исследовано содержание гликолипидов—цереброзидов, сульфатидов и ганглиозидов—в мозгу собак при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите и при интрацеребральном введении антител к основному белку миелина или сумме антигенов мозга. Установлены определенные изменения в содержании гликолипидов в различных структурах мозга в зависимости от способа воспроизведения аллергической демиелинизации. Делается вывод о возможном участии антител к гликолипидам в развитии патологического процесса.

При аллергической демиелинизации развиваются деструктивные процессы в миелиновых структурах. Наряду с этим происходят значительные изменения метаболизма и повреждение клеточных структур ЦНС (нейронов и глии), в связи с чем представляет интерес изучение содержания фракций гликолипидов в мозгу при развитии экспериментального аллергического энцефаломиелита (ЭАЭ). Цереброзиды и сульфатиды содержатся в наибольшей концентрации в миелиновых структурах и являются маркерными гликолипидами миелина [1]. Ганглиозиды локализованы преимущественно в нейрональных мембранах [2], и наибольшее их содержание обнаружено в синаптической фракции [3]. В миелине содержание ганглиозидов незначительно и до 90% их представлено моносialogанглиозидом G_{M1} [4].

Развитие аллергической демиелинизации связывают с антигенностью основного белка миелина (ОБМ), однако установлена антигенность гликолипидов и, следовательно, вовлечение их в иммунопатологический процесс [5—7]. Cohen и соавт. [6] иммунизацией кроликов ганглиозидами, связанными с бычьим сывороточным альбумином, воспроизводили патологический процесс, напоминающий, по их мнению, рассеянный склероз. При этом были выявлены антитела к ганглиозидам. Raine, Trougoff [7] считают, что галактоцереброзиды определяют ответ В-клеток, в то время как «классический» антиген демиелинизации—ОБМ—стимулирует Т-клеточный ответ. Возможно, что миелиновые гликолипиды, и в частности цереброзиды, наряду с ОБМ или в комплексе с ним модифи-

цируют реакцию организма на их введение и играют определенную роль в иммунологических реакциях [8,9].

В данной работе было изучено содержание ганглиозидов в мозгу животных с ЭАЭ и при интрацеребральном введении иммуноглобулина G (IgG), выделенного из антисыворотки к сумме антигенов мозга и из антисыворотки к ОБМ. Подобная постановка эксперимента позволила дифференцировать ответ мозга на антитела к ОБМ и сумме антигенов мозга, содержащих антитела к гликолипидам или их фракциям.

Материалы и методы

Опыты были поставлены на взрослых беспородных собаках обоего пола массой 10—12 кг. ЭАЭ воспроизводили путем однократной инъекции гомогената мозга со стимулятором Фрейнда, содержащим 40 мг/мл убитых микобактерий БЦЖ [10]. Диагноз ЭАЭ ставили на основании клинической картины—парезы, паралич, нистагм, судороги—и гистологического контроля. Процесс развивался на 12—15-й день после иммунизации.

В экспериментах с интрацеребральным введением иммуноглобулинов G в одной серии использовали IgG, полученный из сыворотки крови собак, иммунизированных гомогенатом мозга [11], в другой—IgG из сыворотки крови собак, иммунизированных ОБМ [12]. Суммарный у-глобулин выделяли из сыворотки крови полусыщенным раствором сорбицилового аммония, а затем фракционировали его на колонке (3×100 см) с сефадексом G-200. Первый пик соответствовал иммуноглобулинам класса M, второй—класса G [13]. Выделенный IgG концентрировали высаливанием сернокислым аммонием и пропускали через анти-микробные фильтры. IgG вводили интрацеребрально после субокципитальной пункции в объеме 1,5—2 мл с 0,2 мл компонента морской свинок. В вводимом объеме содержалось 50 мг компонента морской свинок из сыворотки, содержащей антитела к сумме белка для IgG, полученного белком для IgG, содержащего антитела к ОБМ. Животных брали для опыты в аллергического энцефаломиелиита и демиелинизация в структурах

Цереброзиды и сульфатиды выделяли из общего липидного экстракта мозга методом тонкослойной хроматографии на силикагеле Woelm, их содержание определяли по галактозе [14]. Ганглиозиды выделяли из ткани мозга по методу Folch [15] с дополнительной экстракцией по резорциновым методом [17].

Результаты и обсуждение

Как видно из данных, приведенных в табл. 1—3, наибольшее содержание ганглиозидов определялось в коре больших полушарий—841,6, в белом веществе больших полушарий—367,0 и спинном мозгу—

193,67 мкг/г ткани. Обратные отношения характерны для распределения цереброзидов и сульфатидов. Наиболее высокое содержание цереброзидов было обнаружено в спинном мозгу и белом веществе больших полушарий—47,55 и 39,51 мг/г ткани соответственно; в коре больших полушарий концентрация цереброзидов составляла 5,1 мг/г ткани, что в 8—9 раз ниже, чем в структурах с преимущественным содержанием миелиновых волокон. Содержание сульфатидов в белом веществе составляло 10,84, а в спинном мозгу—11,48 мг/г ткани. Содержание гликолипидов в мозгу интактных собак соответствовало их распределению в мозгу других млекопитающих [18, 19].

Таблица 1

Содержание гликолипидов в коре больших полушарий мозга собак при экспериментальном алергическом энцефаломиелите (ЭАЭ) и интрацеребральном введении иммуноглобулинов G (IgG)

	Ганглиозиды (мкг/г ткани)	Церебро- зиды (мг/г тка- ни)	Церебро- зиды с оксикис- лотами (мг/г ткани)	Церебро- зиды с нор- мальными кислотами (мг/г ткани)
Контроль	811,60±35,60 (7)	5,10±0,24 (8)	3,65±0,19	1,46±0,10
ЭАЭ	861,02±49,31 (6)	4,45±0,50* (6)	3,33±0,16	1,12±0,17
Введение IgG из сыво- ротки контрольных собак	825,34±40,98 (5)	5,07±0,34 (5)	3,59±0,28	1,48±0,11
Введение IgG с анти- телами к сумме ан- тигенов мозга	657,82±65,56 (9)	3,65±0,40** (5)	2,62±0,31**	1,07±0,14*
Введение IgG с анти- телами к основному белку миелина	838,75±29,19 (4)	5,17±1,20 (4)	3,38±0,19	1,79±0,19

Примечание. * $p < 0,065$; ** $p < 0,02$

При развитии ЭАЭ количество ганглиозидов уменьшалось в белом веществе больших полушарий на 31 и в спинном мозгу—на 22%. В коре больших полушарий изменений в содержании ганглиозидов не было обнаружено. Уменьшение содержания ганглиозидов установлено у больных рассеянным склерозом [20], что еще раз указывает на его адекватность изучаемой модели.

Уменьшение содержания ганглиозидов сопровождается изменением их качественного состава [11]. Увеличивается относительное содержание более полярных фракций, что может привести к модификации рецепторных свойств мембран, а следовательно, изменению средства между поверхностными антигенами и антителами [21].

Наиболее значительные сдвиги в концентрации цереброзидов при ЭАЭ установлены в спинном мозгу, где их общее количество уменьшалось на 31%, причем на 39% снижалось содержание цереброзидов с нормальными жирными кислотами и на 22%—цереброзидов с оксикислотами.

Таблица 2

Содержание гликолипидов в белом веществе больших полушарий мозга собак при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите (ЭАЭ) и интрацестеральном введении иммуноглобулинов G (IgG)

	Ганглиозиды (мкг/г ткани)	Цереброзиды (мг/г ткани)	Цереброзиды с оксикислотами (мг/г ткани)	Цереброзиды с нормальными кислотами (мг/г ткани)	Сульфатиды (мг/г ткани)
Контроль	367,00±16,99 (7)	39,51±2,45 (5)	25,27±1,86	14,24±1,68	10,84±1,16 (6)
ЭАЭ	252,44±23,57* (6)	42,25±1,71 (6)	26,08±1,24	16,19±0,71	9,21±0,38 (6)
Введение IgG из сыворотки контрольных собак	313,00±25,69 (5)	40,00±2,83 (5)	25,99±2,01	14,02±0,93	9,63±1,18 (5)
Введение IgG с антителами к сумме антигенов мозга	271,70±15,97* (9)	37,67±5,60 (8)	23,15±5,74	14,52±1,22	8,41±0,53 (6)
Введение IgG с антителами к основному белку миелина	309,82±16,14 (4)	36,08±2,23 (4)	23,12±1,80	12,96±0,48	8,52±1,20 (4)

Примечание. *p<0,01

Таблица 3

Содержание гликолипидов в спинном мозгу собак при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите и интраинтернальном введении иммуноглобулинов G (IgG)

	Ганглиозиды (мкг/г ткани)	Цереброзиды (мг/г ткани)	Цереброзиды с окси- кислотами (мг/г ткани)	Цереброзиды с нормальными кислотами (мг/г ткани)	Сульфатиды (мг/г ткани)
Контроль	193,67±8,42 (6)	47,55±2,60 (6)	20,93±1,52	26,63±1,29	11,48±1,13 (6)
ЭАЭ	150,23±8,32 (6)	32,62±1,37 (6)	16,35±0,58	16,27±0,95	7,25±1,22 (6)
	p<0,01	p<0,001	p<0,02	p<0,001	p<0,05
Введение IgG из сыворотки контрольных собак	177,27±18,68 (5)	44,07±2,77 (5)	19,28±1,33	24,79±1,51	10,92±0,89 (5)
Введение IgG с антителами к сумме антигенов мозга	164,73±19,85 (7)	42,77±1,31 (7)	18,81±0,69	23,96±1,34	8,53±0,92 (7)

В коре уменьшение содержания цереброзидов составило 13%, в белом веществе больших полушарий достоверного изменения в составе и количестве цереброзидов не было установлено. В синнем мозгу на 37% уменьшалось содержание сульфатидов, в то время как в белом веществе больших полушарий головного мозга изменение их концентрации не достоверно.

Следовательно, иммунизация животного гомогенатом мозга, приводящая к развитию аллергической демиелинизации, сопровождается уменьшением содержания гликолипидов, наиболее выраженном в спинном мозгу.

Одним из факторов, приводящих к развитию аллергической демиелинизации и связанных с ней деструктивных процессов в мозгу, являются антитела к антигенам мозга [10, 22, 23], главным из них служит ОБМ, введение которого в микродозах развивает патологический процесс [24]. Изучено действие антител к этому белку на физиологические и биохимические процессы в мозгу [12, 25]. Однако, как уже указывалось [5—8], имеются противоречивые сведения об антигенных свойствах гликолипидов и о роли антител к ним в развитии патологического процесса. В связи с этим были проведены серии экспериментов, в которых исследовали содержание гликолипидов в мозгу собак после интрацеребрального введения им IgG из сыворотки крови собак, иммунизированных гомогенатом мозга или ОБМ. Контролем служили животные, которым интрацеребрально вводили IgG из сыворотки крови интактных собак, у которых не было обнаружено изменений в содержании гликолипидов в коре и белом веществе больших полушарий головного мозга и спинном мозгу.

При развитии признаков демиелинизации после интрацеребрального введения IgG, содержащего антитела к сумме антигенов мозга, отмечалось снижение содержания ганглиозидов в коре больших полушарий головного мозга собак на 22%, в белом веществе—на 25% по отношению к контролю. Интрацеребральное введение IgG, содержащего антитела к ОБМ, не изменяло уровень содержания ганглиозидов в коре и белом веществе больших полушарий головного мозга собак.

Содержание цереброзидов при интрацеребральном введении антител к сумме антигенов мозга уменьшалось на 28% в коре больших полушарий, при введении антител к ОБМ достоверного изменения концентрации суммы цереброзидов не было установлено. Содержание сульфатидов в белом веществе при интрацеребральном введении IgG в первой серии опытов уменьшалось на 23%, хотя, вследствие большого разброса данных, это уменьшение недостоверно.

Введение IgG, содержащего антитела к сумме антигенов мозга, не приводило к каким-либо изменениям в содержании гликолипидов в спинном мозгу. Это может быть связано с тем, что при интрацеребральном введении антител ток ликвора переносит их в субарахноидальное пространство головного мозга. При этом белое вещество и кора больших полушарий в первую очередь атакуются вводимыми антителами, в

связи с чем нами не проводилось изучение содержания гликолипидов в спинном мозгу при введении антител к ОБМ.

Таким образом, развитие ЭАЭ сопровождается изменением в содержании гликолипидов, главным образом, в спинном мозгу, в то время как введение антител к сумме антигенов мозга приводит к снижению содержания ганглиозидов и цереброзидов в коре и ганглиозидов в белом веществе больших полушарий головного мозга.

Сопоставление полученных в этой работе материалов с имеющимися данными приводит к заключению, что развитие аллергической демиелинизации представляет собой сложный процесс, который обусловлен комплексом факторов. При ЭАЭ происходят изменения в белковом компоненте мозга, наблюдаются сдвиги в активности ряда ферментов, в том числе активирование кислых протеиназ [26]. В данной работе выявлены биохимические сдвиги на уровне мембран, проявляющиеся в изменении содержания ганглиозидов в нейрональных структурах и цереброзидов и сульфатидов в миелине. При внутривенном введении антител к сумме антигенов мозга также обнаружены повышение активности кислых протеиназ, изменение ряда показателей азотистого обмена [10]. Внутривенное введение антител к ОБМ, вызывающее также резкую активацию кислой протеиназы [12] и изменение активности ряда ферментов, не сопровождается сдвигами в содержании гликолипидов. Следовательно, можно предположить, что в развитии аллергической демиелинизации принимают участие не только антитела к ОБМ, но и антитела к другим компонентам нервной ткани, в том числе, по-видимому, и к гликолипидам мозга.

GLYCOLIPIDS IN THE BRAIN OF DOGS WITH ALLERGIC DEMYELINIZATION

MENDZHERITSKY A. M., KIROV R. I., VILKOV G. A.

Medical School, Rostov-on-Don

The content of glycolipids: gangliosides, sulfatides, cerebrozides has been investigated in the brain of dogs with experimental allergic encephalomyelitis and after intracisternal administration of antibodies to either myelin basic protein or to the complex of brain antigens. Certain changes in the content of glycolipids in different brain structures have been established depending on the model of allergic demyelination. A conclusion is made about the possible participation of the antibodies to glycolipids in the development of this pathology.

ЛИТЕРАТУРА

1. Введение в нейробиологию. (Под ред. Немичека), Прага, 1978.
2. Lowden J. A., Wolte L. S. Can. J. Biochem., 42, 11, 1587—1594, 1964.
3. Avrova N. F., Chenyakaeva E. I., Obukhova E. L. J. Neurochem., 20, 2, 997—1002, 1973.
4. Suzuki K. J. Neurochem., 17, 2, 209—213, 1970.

5. *Saida T., Silborberg D. H., Fry J. M., Manning M. C.* J. Neuro-pathol. and Exp. Neurol., 36, 3, 627—631, 1977.
6. *Cohen O., Sela B.-A., Schwarts M., Eshar N., Cohen J. R.* Israel J. Med. Sci., 17, 8, 711—714, 1981.
7. *Raine C. S., Trougot H. J.* Neuroimmunol., 2, 83—91, 1982.
8. *Brostoff S. W., Porvers G. M.* Brain Res., 93, 1, 175—181, 1975.
9. *Davous P.* Rev. Med., 19, 4, 133—143, 1978.
10. *Вилков Г. А.* Механизмы аллергической демиелинизации в эксперименте. Автореф. докт. дис., Ростов-на-Дону, 1974.
11. *Кирой Р. И., Менджерицкий А. М., Вилков Г. А.* Вопр. мед. химии, 28, 2, 49—59, 1982.
12. *Менджерицкий А. М., Вовченко И. Б.* Укр. биохим. журн., 50, 5, 586—588, 1978.
13. *Девени Г., Гергей Я.* Аминокислоты, пептиды, белки, М., Мир, 1976.
14. *Radin N. S., Lavin F., Brown J. R.* J. Biol. Chem., 217, 789—796, 1957.
15. *Folch-Pi J., Lees M. J.* J. Biol. Chem., 191, 807—815, 1951.
16. *Suzuki K.* J. Neurochem., 12, 3, 629—638, 1965.
17. *Swennerholm L. J.* Neurochem., 10, 3, 613—624, 1963.
18. *Аврова Н. Ф., Обухова Е. А., Кренис Е. М.*—В кн.: Физиология и биохимия морских и пресноводных животных, Л., Наука, 1979.
19. *Кренис Е. М.* Липиды клеточных мембран, Л., Наука, 1981.
20. *Yu R. K., Ledeen R. W., Eng L. S.* J. Neurochem., 23, 169—174, 1974.
21. *Heuningen S.* von FEBS Lett., 68, 5—7, 1976.
22. *Семенов С. Ф., Глебов В. С., Чуриков А. П.* Вестн. АМН СССР, 4, 63—66, 1969.
23. *Simon G., Simon O.* Exp. Neurol., 47, 3, 523—534, 1975.
24. *Терлецкая Я. Т., Белик Я. В., Козулина Е. П.*, Молекуляр. биология, Респ. межвед. сб., вып. 21, 15—26, Киев, 1978.
25. *Менджерицкий А. М., Буриков А. А.* Докл. АН СССР, 255, 2, 487—489, 1980.
26. *Менджерицкий А. М., Вовченко И. Б., Вилков Г. А., Трапезонцева Р. А.* Биохимия животных и человека, Респ. межвед. сб., Киев, вып. 4, с. 40—47, 1980.

Поступила 5. X 1982