

**РЕГИОНАЛЬНОЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕРЕБРОЗИДОВ
И СУЛЬФОЦЕРЕБРОЗИДОВ В ГОЛОВНОМ МОЗГУ КРОЛИКА**

ЛЕВИТИНА М. В.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова АН СССР,
Ленинград

Изучено содержание цереброзидов (Ц) и сульфocereброзидов (СЦ) в разных отделах головного мозга кролика и показано, что наибольшая их концентрация находится в стволовой части по сравнению с передним мозгом и мозжечком. В среднем мозгу содержание обоих гликолипидов довольно высокое. Во всех отделах мозга преобладают Ц с гидроксикислотами над Ц с нормальными жирными кислотами. Средний мозг, мозжечок, продолговатый мозг и белое вещество больших полушарий отличаются от целого мозга высоким содержанием СЦ.

В связи с возможным участием СЦ в проявлении активности Na^+ , K^+ -АТФазы и 3',5'-фосфодиэстеразы 2',3'-циклического нуклеотида и в рецепции эндогенных опиоидных нейропептидов проведено сопоставление распределения этого гликолипида с имеющимися литературными данными по локализации этих соединений в головном мозгу. Выявлено сходство в характере локализации СЦ и распределении активности этих двух ферментов в некоторых отделах головного мозга. Однако не обнаружено параллелизма между количественным распределением СЦ в отделах мозга и концентрацией опиоидных пептидов и их рецепторов.

В настоящее время достаточно полно охарактеризованы Ц и СЦ серого и белого вещества головного мозга человека [1, 2], крысы [3], быка [4]. Содержание их высоко в мембранах миелина и клетках олигодендроглии белого вещества [5, 6] и значительно меньше в нейронах и клетках астроглии серого вещества [7, 8]. Сведения по раздельному изучению фракций Ц с нормальными жирными кислотами и гидроксикислотами и СЦ в разных отделах головного мозга млекопитающих ограничены и неполны. Имеются сведения по суммарным Ц в некоторых областях головного мозга крысы [9] и овцы [10].

До сих пор нет полной ясности в вопросе о функциональной роли этих гликолипидов (ГЛ) в нервной ткани. В ряде обзорных статей подробно рассмотрены современные представления о функциональных свойствах Ц и СЦ [11—13]. Установлена тесная связь миелинизации головного мозга с их синтезом [14, 15]. Особое внимание привлекают СЦ в связи с их возможным участием в транспорте ионов, проявлении активности Na^+ , K^+ -АТФазы головного мозга [11, 16] и рецепции опиоидных нейропептидов [12, 17].

В настоящей работе представлены данные по содержанию Ц и СЦ в разных отделах головного мозга кролика. Полученные результаты сопоставлены с литературными данными по локализации Na^+ , K^+ -АТФазы и распределению опиатных рецепторов и опиоидных пептидов в разных отделах головного мозга для установления корреляции между концентрацией СЦ и этими биохимическими показателями.

Материалы и методы

Взрослых кроликов декапитировали, на холоду извлекали головной мозг и отделяли передний мозг—большие полушария, серое и белое вещество больших полушарий, большие полушария с промежуточным мозгом, средний мозг, мозжечок, продолговатый мозг и отдельно ствол мозга. После удаления оболочек и кровеносных сосудов мозговую ткань измельчали и экстрагировали общие липиды, из которых выделяли Ц и СЦ и определяли их количество по ранее описанным методам [18].

Результаты и обсуждение

Ствол мозга содержит больше Ц+СЦ по сравнению с передним отделом и мозжечком—44 мг/г сырой ткани, в продолговатом мозгу их содержание еще выше—49 мг/г. Содержание обоих ГЛ очень близкое в стволе и продолговатом мозгу (Ц—36 и 40 мг/г и СЦ—8 и 9 мг/г соответственно), наименьшее их количество имеется в больших полушариях (Ц—12 и СЦ—4 мг/г), причем основная их масса сосредоточена в белом веществе (Ц—36 и СЦ—12 мг/г) и незначительная—в сером веществе (Ц—0,6 мг/г). В мозжечке содержание Ц довольно низкое—14 мг/г сырой ткани, тогда как СЦ—высокое и составляет 7,5 мг/г, что выше, чем в целом мозгу, почти в 2 раза. В промежуточном мозгу, не изученном отдельно, оба ГЛ находятся, по-видимому, в небольших количествах, поскольку в больших полушариях, взятых вместе с этим отделом, содержание Ц и СЦ только немного выше, чем в самих больших полушариях. Сравнительно большие количества Ц и СЦ найдены в среднем мозгу: 24 и 7 мг/г сырой ткани соответственно (таблица).

Во всех исследованных отделах, как и в целом мозгу кролика, преобладают Ц с гидроксикислотами над Ц с нормальными жирными кислотами; в мозжечке и сером веществе больших полушарий это преобладание менее выражено. О содержании Ц с нормальными и гидроксикислотами и СЦ в белом веществе из больших полушарий, мозжечка и нижней части ствола (мост и продолговатый мозг) головного мозга кролика сообщают Ishibe, Yamamoto [19]. Белое вещество этих отделов содержит в 2—3 раза больше гидроксид-Ц, чем Ц с нормальными жирными кислотами и уровень СЦ больше в белом веществе мозжечка, чем в белом веществе больших полушарий и ствола мозга.

Таким образом, в головном мозгу кролика концентрация последующих ГЛ возрастает в кранио-каудальном направлении в следующем порядке: большие полушария (белое вещество > серое вещество), мозже-

чок, средний мозг, продолговатый мозг. Обилие Ц и СЦ в стволовой части согласуется с большим количеством миелиновых нервных проводников и клеток олигодендроглии, богатых этими ГЛ. Значительно более высокое содержание суммарных Ц в стволе, чем в больших полушариях и мозжечке, найдено в головном мозгу свин [10] и крыс [9, 20]. У человека стволовая часть мозга также богаче Ц+СЦ, чем передний мозг и мозжечок [21]. Исследование миелина из разных отделов головного мозга крыс показало, что больше всего ГЛ находится в миелине ствола, затем мозжечка и меньше в миелине коры больших полушарий и таламуса [22].

В мозжечке, имеющем многослойную клеточную структуру, образующую его кору и первые тракты миелинизированных волокон, концентрация СЦ выше, чем в целом мозгу. Это можно связать с присутствием СЦ как в миелине, так и в нейронах и глиальных клетках и, возможно, с наличием мембран аппарата Гольджи, которых особенно много в клетках Пуркинье и их дендритах [23]. Сравнительно высокое относительное содержание СЦ найдено в мембранах аппарата Гольджи по сравнению с другими внутриклеточными мембранами почек [24]. В мембранах Гольджи из головного мозга мыши обнаружена цереброзидсульфотрансфераза, синтезирующая СЦ [25].

Для установления связи между распределением СЦ и Na^+, K^+ -АТФазы и локализацией опиоидных пептидов и опиоидных рецепторов в разных отделах головного мозга рассмотрим имеющиеся по этим вопросам литературные данные. В головном мозгу кролика самая высокая активность Na^+, K^+ -АТФазы обнаружена в среднем мозгу, более низкая и одинаковая по величине активность найдены в продолговатом мозгу, коре больших полушарий и коре мозжечка и очень низкая—в зрительном хиазме [26]. В мозолистом теле и шейном отделе спинного мозга этой АТФазы найдено также в головном мозгу крыс и мышей. Однако у этих животных наибольшей активностью обладают ствол и продолговатый мозг и наименьшей—мозжечок. Большие полушария мозга крыс характеризуются промежуточной активностью Na^+, K^+ -АТФазы [27, 28]. В головном мозгу мышей, кроме мозжечка, сравнительно низкая активность АТФазы обнаружена в зонах теменной коры и лимбических структурах, хотя в зонах лобной, затылочной и височной коры активность несколько выше [28]. Таким образом, по-видимому, имеется параллелизм между высоким содержанием СЦ во всей стволовой части и, в частности в среднем мозгу, и высокой активностью Na^+, K^+ -АТФазы в этой области головного мозга. Однако такая корреляция не наблюдается между этими биохимическими параметрами в мозжечке и коре больших полушарий: в первом—активность низкая, содержание СЦ—высокое, в коре, наоборот, активность относительно высокая в определенных зонах, содержание СЦ—низкое. Высокая концентрация СЦ в миелине из разных отделов мозга кролика хорошо коррелирует с наличием на миелиновой мембране специфической Na^+, K^+ -АТФазы [29].

Заслуживает внимания еще один фермент головного мозга, считающийся маркером миелина—3'-фосфолиэстераза 2',3'-циклических нуклеотидов (ФДЭ). Показано, что очищенный препарат этого фермента, выделенный из белого вещества мозга, после делипидизации утрачивает свою активность, которая восстанавливается в условиях *in vitro* при добавлении фосфолипидов и СЦ, но не Ц [30]. Авторы не обсуждают специфического действия СЦ на активность ФДЭ, но заключают, что липиды образуют растворимый в воде комплекс с ферментом, что облегчает взаимодействие его активных центров с субстратом. СЦ реактивируют фермент в количествах от 0,001 мМ до 1 мМ, то есть в пределах его физиологических концентраций и выше. В головном мозгу крыс активность ФДЭ самая высокая в больших полушариях, несколько ниже в стволе, еще более низкая в мозжечке и среднем мозгу и наименьшая—в обонятельных долях [31]. В процессе развития головного мозга выявлена корреляция между появлением и изменением активности ФДЭ, уровнями основного белка миелина и появлением цереброзид-сульфотрансферазы, синтезирующей СЦ. Сопоставление распределения СЦ в отделах головного мозга кролика с локализацией ФДЭ выявляет сложный характер связи между ними. С одной стороны, как будто замечается параллелизм между высоким содержанием СЦ в стволе головного мозга и белом веществе больших полушарий и высокой активностью фермента в этих отделах, но такой зависимости не наблюдается в отношении мозжечка и среднего мозга, в которых содержание СЦ высокое, а активность ФДЭ сравнительно низкая. Имеются сведения, что в головном мозгу кролика ФДЭ связана не только с мембранной миелина, но и с другими мембранными структурами [32]. Обнаружение активности ФДЭ в нейронах, астроглии и преимущественно в олигодендроглии из переднего мозга крысы, преобладание ее в миелине по сравнению со всеми клеточными фракциями [33] хорошо согласуется с наличием в этих клетках СЦ, преобладающей их локализацией в олигодендроглии, и особенно в миелине.

Наиболее интересный аспект роли СЦ в нервной ткани, обсуждаемый сейчас в литературе, связан с их возможным участием в рецепции эндогенных опиоидных нейропептидов (энкефалинов и эндорфинов). Эти пептиды действуют как котрансмиттеры, модулирующие действие первичных нейротрансмиттеров, принимающие участие в сложных механизмах химической передачи нервного импульса. Имеются обзорные работы по структуре, функции, biosинтезу, составу, локализации этих пептидов и их взаимодействию с рецепторами. В данной статье привлечен материал по количественному распределению и специфической локализации опиоидных пептидов и распределению опиатных рецепторов в головном мозгу млекопитающих. Радионуклеотидными исследованиями установлена локализация энкефалинов и эндорфинов в разных отделах головного мозга быка [34] и крысы [35, 36]. Энкефалины найдены во многих областях переднего, промежуточного, среднего мозга, в варолевом мосту и продолговатом мозгу. Содержание их значительно варьи-

рует как в пределах данного отдела, так и между отделами. В переднем мозгу наибольшая концентрация найдена в стриатуме, причем особенно богатым оказался бледный шар, в котором уровень этих пептидов в 4—5 раз выше, чем в соседних областях стриатума, наименьшее их содержание обнаружено в других лимбических структурах, таких, как гиппокамп и свод, а также в лобной коре; умеренные количества—в миндалевом. Средние количества энкефалинов выявлены в промежуточном мозгу, а именно: в таламусе, варолиевом мосту, продолговатом и среднем мозгу. Самый низкий уровень энкефалинов имеет мозжечок. Характер распределения эндорфинов близок к характеру распределения энкефалинов: они также обнаружены во всех областях головного мозга, и их содержание везде в несколько раз превышает содержание энкефалинов. Эндорфинов очень много в стриатуме, гипоталамусе, гипофизе крыс [35, 37, 38], они найдены в гипоталамусе свиньи [39], гипофизе лошади [40] и человека [41]. Средние величины концентраций эндорфинов выявлены в среднем мозгу и лобной коре и наименьшие—в гиппокампе и мозжечке крыс [35].

Опиатные рецепторы обнаружены во всех областях головного мозга млекопитающих (крыса, кролик, бык, обезьяна, человек), и их распределение в основном параллельно содержанию опиоидных пептидов. Очень высокую плотность опиатных рецепторов имеет стриатум и гипоталамус крысы [35] и обезьяны (макака-резус) [42]. В головном мозгу макаки высокая плотность опиатных рецепторов обнаружена также в сенсорных и двигательных областях, наиболее тесно связанных с лимбической системой. Низкий уровень рецепторов найден в мозжечке, продолговатом мозгу и варолиевом мосту, промежуточный—в среднем мозгу и лобной коре переднего мозга [35].

Сопоставление содержания СЦ в отделах головного мозга кролика с изложенными данными по содержанию опиоидных пептидов и их рецепторов не выявляет четкой корреляции между этими показателями. Наоборот, области и отделы, богатые СЦ,—ствол, белое вещество больших полушарий, мозжечок отличаются низким уровнем опиоидных пептидов и низкой концентрацией их рецепторов. Средний мозг с относительно высоким содержанием СЦ имеет умеренное количество опиоидов и их рецепторов. Кора мозжечка крыс, как и кора больших полушарий, содержит опиатные рецепторы [43], обнаруженные в аппарате мембран Гольджи из головного мозга крыс [44], которых очень много в клетках коры мозжечка [23]. Высокий уровень СЦ в мозжечке кролика, относительно их обогащение, как было сказано выше, в мембранах Гольджи, в которых обнаружены и опиатные рецепторы, возможно, каким-то образом связаны между собой.

Согласно представлению Hughes и соавт. [45], энкефалины быстро инактивируются протеазами, в частности аминокептидазами. Поэтому, если принять точку зрения участия СЦ в комплексе опиатного рецептора, можно представить, что они защищают опиоидные пептиды от инактивации, то есть служат их протекторами. Основанием для такого пред-

положения являются модельные эксперименты, свидетельствующие о том, что СЦ легко взаимодействуют с основным белком миелина [46], что, по мнению London и соавт. [47], защищает его от действия протеаз. Одним из путей выяснения участия СЦ в опиатной рецепции является детальное исследование специфических участков головного мозга, обогащенных рецепторами и опиоидными нейропептидами, в отношении содержания и особенностей химического состава СЦ.

Установление некоторой корреляции между содержанием СЦ и активностями таких важных ферментных систем, как Na^+ , K^+ -АТФазы и ФДЭ в отделах головного мозга кролика, несколько приближает нас к пониманию роли этого ГЛ в функционировании нервной ткани.

REGIONAL DISTRIBUTION OF CEREBROSIDES AND SULFOCEREBROSIDES IN RABBIT BRAIN

LEVITINA M. V.

I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry,
USSR Academy of Sciences, Leningrad

Concentration of cerebroside (C) and sulfo cerebroside (SC) is bigger in brain stem compared to cerebellum and anterior brain. Midbrain contains rather high amount of them as well. In all brain regions tested C containing hydroxy fatty acids dominate over the ones containing conventional fatty acids. Midbrain, cerebellum, medulla oblongata and white matter of big hemispheres contain elevated quantity of SC compared to the whole brain.

As SC are possibly involved in the regulation of the activities of Na , K -ATPase and 3'-PDE of 2' 3'-cyclic nucleotide as well as in the reception of endogenous opioid neuropeptides we have compared regional distribution of SC with literature data on localization of these 2 enzymes.

Similarities have been detected between SC and these 2 enzymes' location in some brain areas, but no parallelism has been found in their quantitative distribution.

ЛИТЕРАТУРА

1. O'Brien J. S., Sampson E. L. J. Lipid Res., 6, 4, 537—544, 1965.
2. Fillerup D. L., Mead J. F. Lipids, 2, 4, 295—298, 1967.
3. Kishimoto J., Agranoff B. W., Rudin N. S., Burton R. M. J. Neurochem., 16, 397—404, 1969.
4. Abe T., Norton W. T. J. Neurochem., 32, 823—832, 1979.
5. Poduslo S. E., Norton W. T. J. Neurochem., 19, 727—736, 1972.
6. DeVries G. H., Norton W. T. J. Neurochem., 22, 251—257, 1974.
7. Norton W. T., Poduslo S. E. J. Lipid Res., 12, 84—90, 1971.
8. Raghavan S., Kanfer J. N. J. Biol. Chem., 247, 1055—1056, 1972.
9. Casper R., Vernadakis A., Timiras P. S. Brain Res., 5, 524—526, 1967.
10. Patterson D. S. P., Sweasey D., Hebert C. N. J. Neurochem., 18, 2027—2040, 1971.
11. Farooqui A. A. Int. J. Biochemistry, 9, 10, 703—716, 1978.

12. Zalc B., Craves F. B., Monge M., Leybin L., Loh H., Baumann N. C. r. soc. biol., 174, 4, 457—466, 1980.
13. Крени Е. М. Липиды клеточных мембран, Л., Наука, 1981.
14. Svennerholm L., Vanier M.-T., Junghfer B. J. Neurochem., 30, 1383—1390, 1978.
15. Kishimoto Y., Akanuma H., Singh I. Mol. and Cell. Biochem., 28, 1—3, 93—105, 1979.
16. DeVries G. H., Zmachinski C. J. J. Neurochem., 34, 424—430, 1980.
17. Крени Е. М. Журн. эволюц. биохим. и физиол., 18, 221—228, 1982.
18. Левитина М. В., Абрамова Л. И., Крени Е. М.—В кн.: Физиология и биохимия морских и пресноводных животных, 89—129, Л., Наука, 1979.
19. Ishibe T., Yamamoto A. J. Neurochem., 32, 1665—1670, 1979.
20. Geel S. E., Dreyfus P. M. J. Neurochem., 24, 353—360, 1975.
21. Martinez M. J. Neurochem., 32, 1684—1692, 1982.
22. Smith M. E. J. Lipid Res., 14, 5, 541—551, 1973.
23. Smith K. R. J. Compar. Neurol., 121, 3, 459—484, 1963.
24. Zambrano F., Fleischer S., Fleischer B. Biochim. et biophys. acta, 380, 357—369, 1975.
25. Siegrist H. P., Burkart T., Wilschmann U. N., Herschkowitz N. N., Spycher M. A. J. Neurochem., 33, 497—504, 1979.
26. Harmony T., Urban-Holmgren R., Urban C. M. Brain Res., 5, 10, 101—111, 1967.
27. Stefanovic V., Ebel A., Hermetel J. C., Mandel P. J. Neurochem., 23, 895—897, 1974.
28. Mayanil C. S. K., Kazmi S. M. I., Baquer N. Z. J. Neurochem., 39, 903—908, 1982.
29. Reiss D. S., Lees M. B., Sapirstein V. S. J. Neurochem., 35, 1418—1426, 1981.
30. Clapshaw P. A., Seifert W. J. Neurochem., 35, 164—169, 1980.
31. Sprinkle T. J., Zaruba M. E., McKhann G. M. J. Neurochem., 30, 309—314, 1978.
32. Shapira R., Mobley W. C., Thiele S. B., Wilhelmi M. R., Wallace A., Kibler R. F. J. Neurochem., 30, 735—744, 1978.
33. Snyder D. S., Zimmerman T. R., Farooq M., Norton W. T., Cammer W. J. Neurochem., 40, 120—127, 1983.
34. Lindberg I., Smythe S. J., Dahl J. L. Brain Res., 168, 200—204, 1979.
35. Gros C., Pradelles P., Rouget C., Bepoldin O., Dray F., Fournie-Zaluski M. C., Rogues B. P., Pollard H., Llorens-Cortes C., Schwartz J. C. J. Neurochem., 31, 29—39, 1978.
36. Lindberg I., Dahl J. L. J. Neurochem., 36, 506—512, 1981.
37. Deftos L. J., Catherwood B. D. Life Sci., 27, 3, 223—228, 1980.
38. Mains R. E., Eipper B. A. J. Biol. Chem., 255, 5683—5688, 1981.
39. Minamino N., Kangawa K., Chino N., Sakakibata S., Natsuo H. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 99, 3, 864—870, 1981.
40. Li C. H., Ng T. B., Yamashiro D., Chung D., Hammonds R. G., Tseng L. F. Int. J. Peptide and Protein Res., 18, 3, 242—248, 1981.
41. Watkins W. B., Yen S. S. C., Moore R. Y. Cell and Tissue Res., 215, 3, 577—589, 1981.
42. LaMotte C. C., Newman A., Pert C. B., Snyder S. H. Brain Res., 155, 374—379, 1978.
43. Wamsley J. K., Palacios J. M., Young W. S., Kuhar M. J. J. Histochem. and Cytochem., 29, 1A, 125—135, 1981.
44. Bryan R., Laskowski M. B., Carmine C. Brain Res., 230, 101—109, 1982.
45. Hughes J., Beaumont A., Fuentes J. A., Malfroy B., Unsworth C. J. Exper. Biol., 89, 239—255, 1980.
46. Braun P. E., Radin N. S. Biochemistry, 8, 11, 4310—4318, 1969.
47. London Y., Demel R. A., Geurts van Kessel W. S. M., Vossenbergh F. G. A., Van Deenen L. L. M. Biochim. et biophys. acta, 311, 520—530, 1973.

Поступила 5. VII 1982