

ПРОТЕОЛИПИДНЫЙ БЕЛОК И ЛИПИДЫ ЦЕЛОГО МОЗГА И СУБКЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИИ В РЯДУ ПОЗВОНОЧНЫХ

ЗАБЕЛИНСКИЙ С. А., ДЕНИСОВА Н. А.

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

Представлены данные по содержанию липидов, включая протеолипиды, в целом мозгу у 22 видов и в субклеточных фракциях (миелиновой и синапсомной) у 8 видов исследованных позвоночных. Исследование липидов головного мозга позвоночных подтвердило, что в составе мембран мозга теплокровных снижено относительное количество фосфолипидов по сравнению с холоднокровными. По количественному составу липидов пластиножаберные отличаются от костистых рыб. Обнаружено, что липидный состав фракций мозга представителей разных классов позвоночных имеет немало общих черт. В то же время имеются отличия в липидном составе как в миелиновых, так и в синапсомных мембранах. Можно заключить, что биохимические показатели, отличающие мозг низших позвоночных (рыб) от мозга наземных и в особенности от мозга теплокровных животных, полученные при расчете на г влажной и сухой массы, в основном сохраняются и при расчете на сухую массу липидного экстракта. Близость пластиножаберных и наземных позвоночных по липидному составу мембран мозга объясняется, по-видимому, тем, что они относятся к общей линии развития полуводных (амфибий) и наземных позвоночных.

Содержание липидов в различных мембранах мозга составляет от 40 до 80% их сухого веса. Миелиновые структуры особенно богаты липидами, бимолекулярный слой которых, главным образом фосфолипидов (ФЛ), является одним из наиболее важных структурных компонентов любой клеточной мембраны мозга. Самое высокое содержание ФЛ обнаружено во фракции миеллина, в особенности в препаратах миеллина рыб [1].

Цель настоящей работы состояла в изучении липидного состава мембран мозга в ряду позвоночных, адаптированных к различным температурным условиям.

Материалы и методы

Животных декапитировали, и мозг быстро извлекали. Липиды и протеолипиды экстрагировали из ткани мозга смесью хлороформа и метанола по методу Folch и соавт. [2], и в дальнейшем обработка целого мозга и субклеточных фракций шла аналогично тому, как описано ранее [3]. Субклеточные фракции получали по методу, приведенному в работе Sun G., Sun A. [4]. В липидных экстрактах (ЛЭ) определяли сухой остаток, суммарное содержание ФЛ, белок протеолипидов [3]. Содержание глицолипидов [5] и холестерина [6] определяли колориметрически и с помощью метода ГЖХ*.

Следует отметить, что масса липидов, входящих в протеолипидные комплексы, составляет 25—30% от массы очищенных протеолипидов (ОПЛ) у теплокровных

* Авторы приносят благодарность М. А. Чеботаревой и М. В. Левитиной за оказанную помощь в определении содержания холестерина и глицолипидов.

животных и около 40% у холоднокровных [3, 7]. Следовательно, зная содержание протеолипидного белка в ЛЭ мозга у изученных животных, можно рассчитать примерное содержание ОПЛ на г влажной ткани мозга.

Статистическую обработку проводили стандартным методом на микро-ЭВМ «Электроника ДЗ-28».

Результаты и обсуждение

Исследован головной мозг 21 представителя позвоночных. В табл. 1 приведены данные о средних величинах массы головного мозга у исследованных животных. Следует отметить индивидуальную вариабельность размеров тела и головного мозга в пределах вида у исследованных животных. Наиболее сильные колебания в размерах головного мозга обнаружены у колючих акул или катранов (*Squalus ascanthias*).

Из результатов определения сухой массы мозга, представленных в табл. 1, следует, что сухая масса мозга теплокровных животных больше, чем у холоднокровных, что, по-видимому, связано с увеличенным в мозгу высокоорганизованных животных количества клеточных элементов и со степенью миелинизации мозга животных [8]. Сухая масса нелипидного компонента в составе мембран мозга всех изученных животных изменяется в меньшей степени (в пределах 11—126 мг/г влажной ткани), чем сухая масса липидов. Так, сухая масса ЛЭ у этих видов животных изменяется в пределах 49—105 мг/г влажной ткани. Самое высокое ее содержание (без учета ганглиозидов) обнаружено у млекопитающих и рыб—81—105 мг/г влажной ткани, а самое низкое—у амфибий—49 мг.

Наиболее отчетливые сдвиги в изменении сухой массы ЛЭ мозга происходят на ранних стадиях развития, в особенности у незрелорождающихся млекопитающих (табл. 2). Например, у однодневных мышей она составляет 25,7 мг, а у взрослых—88,4 мг/г влажной ткани мозга. Морская свинка выбрана в качестве объекта исследования, поскольку она является зрелорождающимся млекопитающим с частично сформированным миелином и с почти нормальной терморегуляцией. Ряд авторов [9, 10] отмечает, что в онтогенезе незрелорождающихся животных происходит изменение липидного состава мембран мозга, в частности обогащение их протеолипидным белком и гликолипидами [9, 10]. Одной из причин этого, по мнению авторов, является активный процесс миелинизации. Нами также установлено, что липидный состав мозга взрослых морских свинок отличается от однодневных более высоким содержанием всех липидов, в том числе и протеолипидов. Например, сухая масса ЛЭ у взрослых морских свинок увеличивается в 1,6 раз, а холестерин—в 1,8 раз по сравнению с ЛЭ мозга новорожденных, причем нарастание ФЛ происходит лишь в 1,2 раза.

В мембранах мозга млекопитающих и костистых рыб ФЛ составляют 41—59 мг/г влажной ткани, тогда как у амфибий их содержи-

Таблица 1

Состав липидного экстракта головного мозга позвоночных

Животное	Количество животных в опыте	Масса целого мозга (мг)	С о д е р ж а н и е (в мгт влажной ткани)					
			сухой массы мозга	сухой массы ЛЭ	фосфолипидов	белка протеолипидов	гликолипидов	холестерина
Макака	1	87250	225,0±6,2	105,3±2,3	52,5±2,1	8,3±0,8	19,1±1,9	22,4±2,2
Морская свинка	5	3610±3,0	—	85,4±1,6	41,2±1,1	7,2±0,3	16,4±2,1	20,2±1,8
Крыса белая	10	1850±2,0	210,3±5,2	100,2±1,9	50,1±1,9	6,0±0,6	17,3±1,7	21,4±2,1
Хомяк	3	1095±5,0	—	83,0	41,0	5,5	14,0±1,7	18,3±1,9
Мышь (6-месячная) [13].		444,5	238,0	88,4	52,0	5,0	13,1	20,0
Ворона серая	3	—	—	79,3±1,7	41,6	5,5±1,1	17,1±1,1	15,1±1,4
Кура	10	3031±2,0	194,9±3,9	71,3±1,8	37,2±1,3	6,4±1,0	16,0±1,7	12,4±1,6
Голубь	10	2200±3,0	199,6±4,1	73,9±2,1	38,1±1,4	6,3±1,1	16,4±1,3	11,9±1,8
Агма степная	7	91±2,0	110,4±3,6	69,1±2,0	36,2±1,3	5,1±0,9	9,3±1,0	14,3±1,1
Желтопузик	10	300±1,0	170,0±4,1	64,6±1,6	34,9±0,8	3,8±0,6	8,1±1,3	14,0±1,2
Чернаха степная	10	350±2,0	170,3±4,4	51,1±2,0	29,4±1,6	4,5±0,8	6,1±0,9	10,3±1,3
Лягушка	20	70±0,5	161,1±3,7	48,9±1,5	27,9±1,4	4,1±0,9	4,9±0,8	9,9±1,0
Форель (2—3 года)	10	228±3,0	185,3±3,3	81,4±1,6	54,9±1,1	3,0±0,5	4,0±0,8	18,8±2,0
Форель (3—4 года)	100	300±0,4	200,1±8,0	91,3	59,0±1,8	3,2±0,5	3,9±0,7	19,9±2,1
Акула молот	1	44100	—	83,7	41,0	4,4	—	—
Акула белоперая	2	32100±50,0	—	66,8	35,1	3,6	10,6—1,1	15,3—1,6
		29170±20,0	—	—	—	—	—	—
Акула голубая	1	15510	—	60,3	31,1	2,7	—	—
Катран L-100—126 см	5	3525±18,0	181,1±3,5	60,3±1,3	31,4±1,9	2,3±0,5	9,0±1,0	14,8±1,1
Катран L-45 см	1	949	178,3±3,1	53,5	28,4±1,5	2,3±0,5	7,1±0,7	12,9±1,4
Скат лиса	7	1810±15,0	178,0±4,5	61,7	35,3±2,1	3,0±1,0	8,1±0,9	14,5±1,3

ся в 1,5—2 раза меньше. Содержание холестерина у млекопитающих и костистых рыб приблизительно в 1,4—2 раза больше, чем у представителей остальных классов позвоночных.

Таблица 2

Состав липидных экстрактов головного мозга новорожденных позвоночных

Животное	Масса целого мозга (мг)	Содержание (мг/г влажной ткани)					
		сухой мас- сы мозга	сухой массы ЛЭ	фосфоли- пидов	белка про- теолипидов	гликоли- пидов	холесте- рина
Морская свинка (3)	2072±1,0	180,0±3,5	52,9±1,4	33,5±1,6	1,8±0,7	7,1±1,5	11,3±1,7
Крыса [13] (3)		124,0	25,7	17,6	—	2,7	3,8
Мышь [13] (3)		132,0	23,7	21,5	0,3	0,3	4,2

Анализ полученных данных показал (табл. 1), что в содержании суммарных гликолипидов (цереброзидов и цереброзидсульфатов) и протеолипидного белка при расчете на г влажной ткани мозга прослеживается определенная корреляция с уровнем организации животных, что, возможно, связано также с различной степенью миелинизации этого органа. Сопоставление содержания гликолипидов и протеолипидного белка позволило выявить высокую корреляцию между этими показателями ($r=0,89$).

Таблица 3

Состав липидных экстрактов головного мозга позвоночных (% от сухой массы липидного экстракта)

Животное	Фосфо- липиды	Белок про- теолипидов	Глико- липиды	Холесте- рин
Макака	50,0	7,9	18,2	21,3
Морская свинка	48,2	8,4	19,2	23,7
Крыса белая	50,0	6,0	17,3	21,4
Хомяк	49,6	6,6	16,9	22,1
Мышь [13]	58,8	5,7	14,8	22,6
Ворона серая	52,5	6,9	21,5	19,1
Кура	52,2	9,0	22,4	17,4
Голубь	51,6	8,5	22,2	16,1
Агама степная	54,0	7,6	13,9	21,3
Черепаха степная	57,5	8,8	12,2	20,2
Желтопузик	54,0	5,9	12,5	21,7
Лягушка травяная	57,1	8,4	10,0	20,2
Форель	67,5	3,7	4,9	23,1
Сельдь пваси	67,1	4,0	4,3	22,3
Хариус байкальский	70,0	3,6	4,8	21,8
Камбала тихоокеанская	68,1	3,3	4,7	23,0
Скат черноморский	51,5	4,6	12,6	22,4
Катран черноморский	52,0	3,8	14,9	24,5

В табл. 3 представлен липидный состав мозга изученных позвоночных в процентах от сухой массы ЛЭ. Мы сочли возможным подойти к рассмотрению состава мембран мозга животных с разным уров-

нем организации с точки зрения процентного состава основных мембранных липидов на основе следующих фактов: во-первых, масса сухого ЛЭ и суммарная масса липидов и протеолипидного белка у каждого из изученных животных совпадают (табл. 1); во-вторых, во всех предложенных моделях клеточной мембраны ее основа представлена бимолекулярным слоем липидов; в-третьих, биохимические показатели, отличающие мозг низших позвоночных (рыб) от мозга наземных и особенно от мозга теплокровных животных, полученные на г влажной и сухой массы мозга, в основном сохраняются и при расчете на сухой вес ЛЭ.

Таблица 4

Состав липидных экстрактов миелиновых и синантосомных субклеточных фракций (% от суммы сухой массы ЛЭ)

Ж и в о т н ы е	Белок протеолипидов	Фосфолипиды	Гликолипиды	Холестерин
Ф р а к ц и я м и е л и н а				
Крыса белая	12,3±1,7	36,1±1,1	25,9±1,9	22,6±1,7
Кура	12,4±1,6	38,8±1,9	27,6±1,6	21,1±1,8
Черепаша степная	11,9±1,3	37,9±1,4	26,3±1,7	22,9±2,1
Лягушка	10,2±1,2	42,7±1,5		
Форель	3,9±0,7	63,1±1,2	8,3±1,2	21,9±1,9
Волосатка обыкновенная	4,1±0,9	55,3±3,2	12,0±2,7	23,4±2,3
Акула катран	2,9±0,4	44,3±1,8		
Скат тихоокеанский	4,3±1,1	46,3±2,7	22,9±2,9	24,1±1,8
Скат черноморский	3,0±1,9	44,2±3,0		
Ф р а к ц и я с и н а н т о с о м				
Крыса белая	5,1±0,9	57,9±1,8	9,8±1,3	11,8±1,4
Кура	5,9±0,7	60,1±1,7	13,8±1,8	18,3±1,8
Черепаша степная	4,3±0,9	63,9±1,6	8,3±1,4	17,8±1,9
Лягушка	3,6±1,0	63,8±1,2		
Форель	4,6±1,1	70,1±1,9	6,5±0,9	17,3±1,5
Волосатка обыкновенная	4,0±0,9	66,4±2,9	7,3±2,3	19,8±1,9
Акула катран	3,7±1,2	54,5±2,1		
Скат тихоокеанский	4,2±1,1	57,6±3,1	14,2±2,5	21,1±2,1
Скат черноморский	4,4±1,0	55,8±2,6		

Анализ липидного состава головного мозга позвоночных при расчете на процентное содержание от сухого веса ЛЭ показал, что при сравнительно одинаковом содержании холестерина, общее количество гликолипидов нарастает с 4% у костистых рыб до 18—22% у млекопитающих и птиц (табл. 3). Количество протеолипидного белка практически неизменно в ряду животных (6—9%), кроме рыб, у которых оно значительно ниже (3—5%). В содержании ФЛ, которые составляют основу мембранных липидов, можно проследить тенденцию к понижению их доли в составе мембран с повышенным уровнем организации с 65—70% у костистых рыб до 51% у млекопитающих.

Данные, представленные в табл. 1—3, получены при изучении гомогената целого мозга животных. Они дают общее представление о составе мембран мозга. Изучен также липидный состав специаль-

зированных мембран мозга (фракции миелина и синапсом) у животных разного уровня филогенетического развития, разной степени миелинизации мозга и живущих в разных температурных условиях. Из данных, представленных в табл. 4, следует, что миелиновые мембраны земноводных, рептилий, птиц и млекопитающих имеют сходный состав. Содержание ФЛ составляет 36,1—42,7%, содержание протеолипидного белка—10,2—12,4%, гликолипидов—26,3—27,6%. Миелиновые мембраны рыб, выделенные в тех же условиях, что и миелиновые мембраны других изученных животных, отличаются по относительному содержанию ФЛ, гликолипидов и протеолипидного белка (табл. 4). Исходя из наших данных, можно отметить, что в составе миелиновых мембран мозга изученных животных снижено относительное содержание ФЛ по сравнению с относительным содержанием ФЛ в мембранах, выделенных из целого мозга. Следовательно, в миелине у всех изученных животных по сравнению с целым мозгом увеличено относительное количество гликолипидов, протеолипидного белка и холестерина.

По представлениям Е. М. Крепеа «...липиды в силу особенностей их химического состава и строения, форм связей с белками в мембранах как бы специально приспособлены природой для целей адаптации, прежде всего температурной» [1].

Что касается синапсомных мембран, то все они обогащены ФЛ по сравнению с миелиновыми. В ряду изученных животных можно проследить тенденцию к понижению содержания ФЛ от рыб (за исключением хрящевых) к высшим позвоночным. В синапсомных мембранах не прослеживается корреляция в содержании гликолипидов и уровня организации животных.

Из полученных данных следует, что увеличение содержания протеолипидного белка, гликолипидов и снижение относительного содержания ФЛ в мембранах мозга в ряду позвоночных протекает параллельно развитию теплокровности.

PROTEIN OF PROTEOLIPIDS AND LIPIDS IN SUBCELLULAR FRACTIONS AND WHOLE BRAIN OF VERTEBRATA

ZABELINSKY S. A., DENISOVA N. A.

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

Study of the content of lipids (including proteolipids) in the whole brain of 22 species and in subcellular fractions (myelin and synaptosomal) of 8 types of vertebrata confirm that in the warm-blooded animals relative content of phospholipids in brain membranes is lower than in cold-blooded species. It was shown that lipid composition of the brain fractions in various vertebrates is rather close, at the same time differences in the lipid composition both in myelin and synaptosomal membranes were found. It may be concluded that biochemical traits which

distinguish the brain of lower vertebrates (fishes) from the brain of terrestrial, especially warm-blooded animals, calculated per 1 g of wet and dry mass, are consistent with those calculated per dry mass of the lipid extract. Similarity of the Elasmobranchia and terrestrial vertebrates with respect to the lipid composition of brain membranes comes presumably from the fact that these species share common developmental pathways with semi-aquatic and terrestrial vertebrates.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Кренис Е. М. Липиды клеточных мембран, Л., Наука, 1981.
2. Folch J., Ascoli I., Lees M. Biol. Chem., v. 191, p. 833—841, 1951.
3. Забелинский С. А., Помазанская Л. Ф., Чирковская Е. В. Журн. эволюц. биохимии и физиологии, т. 20, № 3, с. 239—245, 1984.
4. Sun G. Y., Sun A. Y. Biochim. et biophys. acta, v. 280, p. 306—315, 1972.
5. Svennerholm L. J. Neurochem., v. 1, p. 42—53, 1956.
6. Davison A. N., Dobbing J., Morgan R. S. J. Neurochem., v. 3, № 1, 89—94, 1958.
7. Забелинский С. А., Помазанская Л. Ф. Журн. эволюц. биохимии и физиологии, т. 20, № 6, с. 570—575, 1984.
8. Norton W. T., Podusto S. E. J. Neurochem., v. 21, p. 759—773, 1973.
9. Folch J.—In: Biochemistry of the developing nervous system. (ed. H. Waelsch), p. 121—136. New York, Acad. Press, 1955.
10. Манукян К. Г., Левонян К. Л., Киракосян Л. Г.—В кн.: Вопр. биохимии мозга, т. 10, сс. 192—206. Ереван, Изд-во АН АрмССР, 1975.

Поступила 21. I 1986

Во II—III квартале 1987 года издательство «Наука» (Москва) выпустит монографию О. В. ГОДУХИНА «Модуляция синаптической передачи в мозге» (отв. ред. д. б. н., проф. А. Ю. Буданцев), в которой изложен ряд данных, полученных в последние годы автором монографии и рядом сотрудников Лаборатории структуры и функции синапсов Института биологической физики АН СССР.

Монография посвящена анализу собственных и литературных данных, посвященных принципам и молекулярным механизмам модуляции синаптической передачи в мозгу млекопитающих. В частности, в монографии описан «гомеостатический» принцип модуляции синаптической передачи в мозгу, впервые обоснованный в работе автора. Представлены экспериментальные результаты изучения молекулярных механизмов этой модуляции.

В монографии на примере глутамат- и дофаминергической синаптических передач исследована модулирующая функция целого класса физиологически активных соединений: анилина, катехоламинов, опондных пептидов, стероидных гормонов. Проанализирована также роль циклических нуклеотидов и Ca^{2+} в молекулярных механизмах модулирующего действия этих веществ.

В заключении обсуждается возможное практическое значение изучения процессов модуляции синаптической передачи в мозгу. В частности, на основании полученных данных автор выдвигает гипотезу, объясняющую возникновение такого неврологического заболевания, как хория Гентингтона.

Монография предназначена для широкого круга специалистов: биофизиков, нейрофизиологов, нейрехимиков и нейрофармакологов.