



УДК 577.125+616.831

ИЗУЧЕНИЕ ГАНГЛИОЗИДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА И СОСУДИСТЫХ СПЛЕТЕНИЙ ПРИ МЕНИНГОЭНЦЕФАЛИТАХ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ

КАРПОВА О. Б., АВРОВА Н. Ф., *ЦИНЗЕРЛИНГ В. А.

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

*Научно-исследовательский институт детских инфекций, Ленинград

Обследовано 15 случаев менингоэнцефалита, которые различались как по своей этиологии, так и по степени тяжести. Наиболее выраженное снижение концентрации ганглиозидов наблюдалось у детей, умерших от поражений, вызванных вирусом герпеса. При поражении мозга менингококками или вирусом гриппа также наблюдалось значительное снижение концентрации ганглиозидов в сером веществе мозга, свидетельствующее о деструкции нервных клеток. Результаты биохимического анализа хорошо согласовались с данными морфологического изучения мозга при этих поражениях. Достоверные изменения состава выявлены в ткани мозга только лишь при менингоэнцефалитах герпетического происхождения. Относительное содержание ганглиозида Gm_{15} в сером веществе мозга этих больных было значительно выше по сравнению с контролем. Содержание ганглиозидов в сосудистых сплетениях мозга было, напротив, намного выше, чем в контролях (в 3—8 раз), при их дистрофических изменениях, что, возможно, имеет защитное значение. Комплексное изучение биохимических и морфологических изменений при менингоэнцефалитах в сочетании с клиническими и этиологическим изучением тех же случаев существенно для понимания патогенетических механизмов поражения мозга и сосудистых сплетений при этих болезнях.

Ганглиозиды представляют собой сложные гликофинголипиды, содержащие сialовые кислоты. Они являются характерными компонентами мембран нервных клеток, позвоночных, в том числе и человека. Содержание и состав ганглиозидов нервных клеток изменяется в зависимости от возраста и при различных поражениях ЦНС.

В настоящее время установлено, что содержание ганглиозидов в нервной ткани является адекватным критерием для количественной оценки количества синапсов и массы плазматических мембран нейронов [1, 2]. Определение активности ферментов обмена ганглиозидов и состава этих липидов при болезнях Тея-Сакса, Сандхоффа и других формах липидозов позволяет проводить дифференциальную диагностику наследственных нарушений метаболизма липидов [3, 4]. Изучению молекулярной организации ганглиозидов при инфекционных заболеваниях посвящены пока лишь единичные исследования.

Менингоэнцефалиты представляют собой группу широко распространенных инфекционных болезней различной этиологии [5]. Работ, посвященных изучению ганглиозидов при этих формах болезней, в литературе мы не нашли. Между тем, использование такого биохимического показателя, как содержание ганглиозидов в нервной ткани для оценки степени поражения нервных клеток при различных формах менингоэнцефалитов представляет значительный интерес. Изучение состава ганглиозидов при инфекционных поражениях ЦНС приобретает особую значимость в связи с имеющимися в современной литературе данными о ганглиозидной природе ряда вирусных рецепторов [6, 7, 8].

Целью настоящей работы является изучение содержания и состава ганглиозидов головного мозга и сосудистых сплетений мозга у детей, умерших от менингоэнцефалитов, и сопоставление полученных данных с результатами клинического, морфологического и этиологического изучения этих случаев.

Материалы и методы

Нами было изучено 15 случаев менингоэнцефалитов различной этиологии и различной степени тяжести у детей разных возрастных групп. В качестве контроля служил мозг детей, погибших в результате травмы или от заболеваний, не связанных с поражением ЦНС.

Для биохимических исследований на вскрытии из серого и белого вещества лобной доли головного мозга брались навески по 1—3 г, а из хориоидальных сплетений боковых желудочков по 0,25—0,5 г. Содержание ганглиозидов определяли по реакции с резорцином и выражали в мкг N-ацетилнейраминовой кислоты [9, 10]. Разделяли ганглиозиды на индивидуальные фракции методом восходящей тонкослойной хроматографии, как это было описано ранее [11].

Для гистологического исследования кусочки серого и белого вещества лобной доли головного мозга и других участков мозга фиксировали в растворе Кайзерлинга и заливали в целлоидин-парафин. Срезы окрашивались гематоксилином-эозином, азураэозином, тионинном по Ниссю, а при необходимости и с помощью других методов. Определение этиологии процесса базировалось на иммунофлуоресцентных исследованиях материала из легких и головного мозга, серологических исследованиях крови и ликвора, а также подробного бактериологического изучения. В результате исследований по определению этиологического фактора оказалось, что изученные нами случаи менингоэнцефалитов были вызваны менингококком, микоплазмой, вирусом герпеса и различными штаммами вируса гриппа.

Результаты исследований

Обследовано 15 случаев менингоэнцефалитов, различающихся по своей этиологии. Наиболее выраженное снижение концентрации ганглиозидов в сером веществе мозга наблюдалось у детей, умерших от поражений, вызванных вирусом герпеса по сравнению с контролями

(446 ± 56 и 833 ± 32 мкг соответственно, см. табл.). В одном из случаев содержание ганглиозидов снижалось до уровня, характерного для белого вещества мозга, что указывает на распад серого вещества. Наблюдалась тенденция к снижению содержания ганглиозидов в белом веществе мозга, однако достоверных изменений не было выявлено. Эти данные свидетельствуют о далеко зашедшем процессе дегенеративного распада нервных клеток при менингоэнцефалитах этой этиологии. Во всех трех случаях морфологические исследования также показали сильно выраженные некротические процессы в сером веществе (рис. 1, а, б, г). Клинические симптомы свидетельствовали о тяжелых поражениях не только оболочек мозга, но и самой ЦНС при менингоэнцефалитах, вызванных вирусом герпеса.

В тех случаях, когда болезнь была вызвана менингококками или вирусом гриппа, также наблюдалось достоверное снижение концентрации ганглиозидов в коре мозга, но не в белом веществе по сравнению с контрольными величинами, однако оно было менее выражено, чем при герпетическом поражении (табл.). Эти результаты свидетельствуют о дегенерации значительного числа нервных клеток при этих формах болезни. По данным, полученным с помощью гистологических методов, в случаях менингоэнцефалитов, вызванных менингококками или вирусом гриппа, наблюдаются ишемические и дистрофические поражения нейронов. И, наконец, при одном из случаев менингококковой инфекции (больной Н., 8 мес.) содержание ганглиозидов как в белом, так и в сером веществе мозга находилось в пределах колебаний контрольных величин, то есть не отличалось от этих показателей в мозгу детей, не имеющих поражений ЦНС. Данные морфологического анализа также свидетельствуют о том, что в этом случае имели место лишь слабые изменения нервных клеток (рис. 1, в).

Особую группу болезней составляли менингоэнцефалиты, вызванные микоплазменной инфекцией. Нами обследовано 4 случая новорожденных детей, умерших от этой инфекции. В сером и в белом веществе мозга не наблюдалось достоверных изменений в концентрации ганглиозидов по сравнению с мозгом детей того же возраста, умерших от причин, не вызывающих поражения ЦНС (таблица). Гистологическими методами также не выявлено некротических и выраженных дистрофических изменений нервных клеток при этой форме инфекции.

Нами также были изучены концентрации ганглиозидов в сосудистых сплетениях боковых желудочков, которые особенно поражаются при менингоэнцефалитах. *A priori* можно было бы ожидать снижение содержания ганглиозидов в сосудистых сплетениях мозга в результате деструктивных изменений, входящих в их состав эпендимоцитов (рис. 1, г, д), развивающихся как и нейроны из клеток нервной трубки. Однако, как оказалось, содержание ганглиозидов в сосудистых сплетениях больных менингоэнцефалитом, напротив, выше, чем в норме (табл.). Интересно отметить, что самая высокая концентрация ганглиозидов в хорриондальных сплетениях наблюдалась у больных с наиболее выраженным

Таблица

Содержание ганглиозидов в головном мозгу и в сосудистых сплетениях при менингоэнцефалитах различной этиологии

Этиология болезни	Степень поражения мозга по данным гистологического анализа	Число наблюдений	Концентрация ганглиозидов мкг N-ацетилнейраминовой кислоты 1 г сырого веса мозга		
			Серое вещ-во	Белое вещ-во	Сосудистое сплетение
Вирус герпеса (Herpes simplex virus 1)	Некротические поражения нейронов	3	446±56 p<0,01	192±51 p>0,1	92±42
Менингококковая инфекция (Neisseria meningitidis B)	Ишемические и дистрофические поражения нейронов	3	574±27 p<0,01	290±13 p>0,1	51±10
Вирус гриппа (Myxovirus influenzae)		4			
Менингококковая инфекция (Neisseria meningitidis B)	Слабые изменения нейрона	1	704	237	63
Контроль—10 лет	Без поражения ЦНС	5	833±32	255±41	18±1,5
Микоплазменная инфекция (Mycoplasma hominis)	Слабые изменения нейронов	4	448±82	401±22,4	—
Контроль—новорожденные	Без поражений ЦНС	2	394	420	

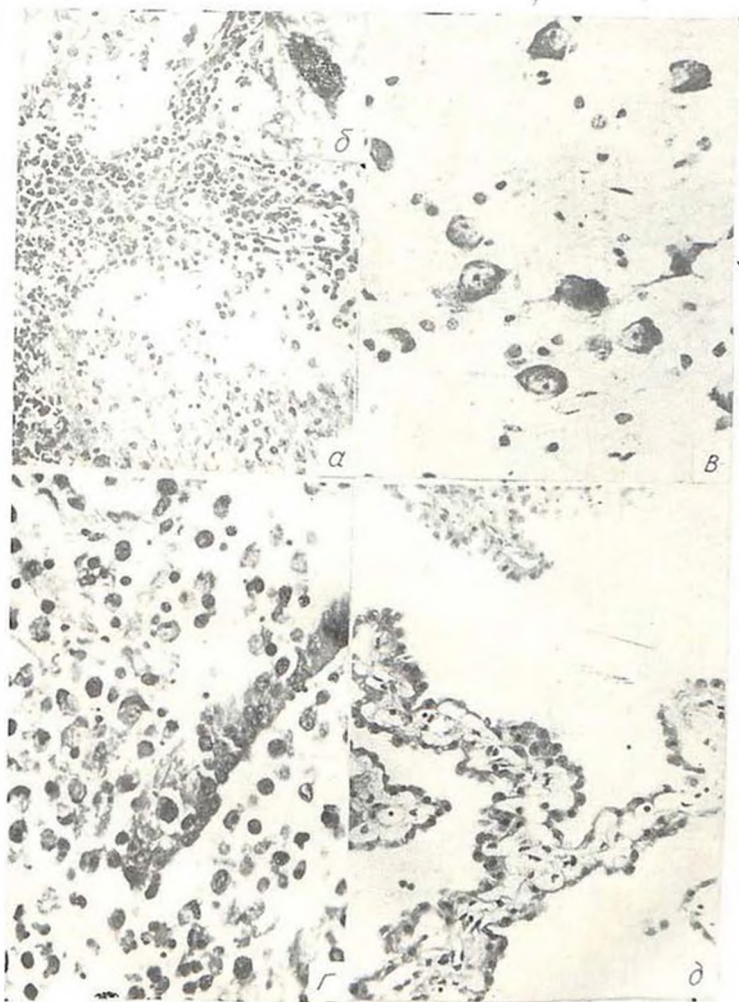


Рис. 1. Морфологические изменения головного мозга при менингоэнцефалитах различной этиологии: а—обширные некрозы и периваскулярная инфильтрация при герпетическом менингоэнцефалите (окраска гематоксилином-эозином, X 375); б—интрануклеарные базофильные включения и перинуклеарный гало при герпетическом менингоэнцефалите (окраска гематоксилином-эозином, X 945); в—дистрофические изменения, увеличение в объеме и базофилия цитоплазмы нервных клеток при гриппозном менингоэнцефалите (окраска по Нисслю, X 750); г—слущивание, дистрофические изменения и мелкодымчатый разлад ядер астроцитов бокового желудочка при герпетическом менингоэнцефалите (окраска гематоксилином-эозином, X 450); д—небольшая пролиферация клеток инстилки сосудистого сплетения при нейротоксикозе на фоне острой вирусной респираторной инфекции (окраска гематоксилином-эозином, X 375).

некротическим распадом нейронов. Так, у больного Б. (8 лет, у которого наблюдался почти полный распад серого вещества), содержание ганглиозидов в сосудистых сплетениях увеличено почти в 10 раз. В 2—3 раза была увеличена концентрация в хориондальном сплетении и в других случаях болезни, вызванных вирусом герпеса, для которых характерен менее выраженный некротический распад нейронов. У больных менингоэнцефалитом, вызванным менингококковой инфекцией или вирусом гриппа, содержание ганглиозидов в сосудистых сплетениях колебалось от величин, незначительно превышающих контрольные величины, до 4—5-кратного увеличения этих гликолипидов. Значительное увеличение концентрации ганглиозидов (до 63 мкг/1 г ткани) обнаружено у одного из больных с менингококковой инфекцией, у которого наблюдались лишь слабые изменения нейронов и содержание ганглиозидов находилось в пределах индивидуальных колебаний у детей без поражения ЦНС (табл.).

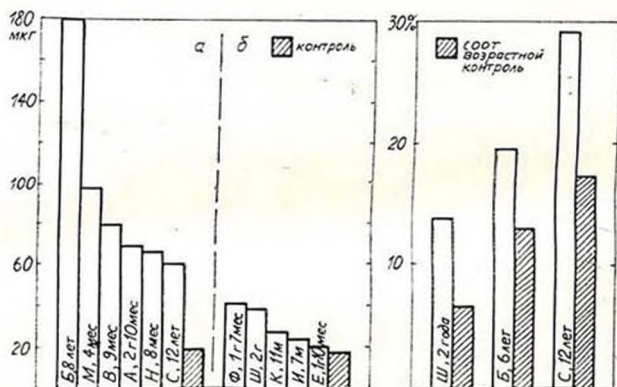


Рис. 2. Содержание ганглиозидов в сосудистых сплетениях при менингоэнцефалитах (мкг сиаловой кислоты ганглиозидов/1 г сырой ткани): а—сосудистые сплетения с дистрофическим изменением; б—сосудистые сплетения без деструктивных изменений

Рис. 3. Содержание фракции ганглиозида G'Dib в сером веществе головного мозга больных герпетическим менингоэнцефалитом (% от суммы сиаловой кислоты ганглиозидов)

На рис. 2 изученные случаи подразделены не в зависимости от этиологии и степени поражения нервной ткани, а по результатам гистологического посмертного обследования состояния сосудистых сплетений. В тех случаях, когда на основании гистологического исследования были обнаружены дистрофические изменения хориондальных сплетений, когда можно было говорить о дистрофических изменениях эндимиоцитов, о нарушении обычных контактов между ними, уровень ганглиозидов был в 3—10 раз выше по сравнению с нормой и составлял 62—178 мкг

сиаловой кислоты ганглиозидов. Другие наблюдения показали, что когда гистологическая картина позволяла говорить об относительной сохранности сосудистого сплетения при поражении коры головного мозга, уровень ганглиозидов был лишь незначительно выше возрастной нормы (рис. 2, б).

Состав ганглиозидов в коре и в белом веществе головного мозга с менингоэнцефалитами, вызванными вирусом гриппа или менингококковой инфекцией, не отличался сколько-нибудь существенно от контрольных величин. Не обнаружено выраженных изменений состава ганглиозидов по сравнению с контролями и при микоплазменной инфекции. Как в норме, так и при этих формах болезни на долю ганглиозидов G_м, G_в, G_в и G_т приходилось 80—90% от суммы сиаловой кислоты ганглиозидов.

Достоверные изменения состава выявлены в ткани мозга только лишь при менингоэнцефалитах герпетического происхождения. Относительное содержание ганглиозида G_в в сером веществе мозга этих больных было значительно выше по сравнению с контролем (рис. 3).

Обсуждение результатов

Данные по содержанию ганглиозидов в сером и в белом веществе мозга человека в норме (табл.) согласуются с литературными данными [12, 13].

Нами найдено, что содержание ганглиозидов в хориоидальных сплетениях человека в 40—50 раз ниже, чем в коре мозга. В литературе сведений о содержании ганглиозидов в сосудистых сплетениях нам не встретилось, но полученные величины хорошо укладываются в интервал колебаний, характерных для других органов и тканей. Как правило, в экстракционных тканях содержание ганглиозидов на 1—2 порядка ниже, чем в нервной ткани [14, 15].

Содержание ганглиозидов в ткани мозга снижается существенно при старческом слабоумии и ряде других неврологических болезней, связанных с деградацией нейронов [13, 16, 17]. Обучение, напротив, может сопровождаться достоверным увеличением содержания и скорости обмена ганглиозидов, что показано в опытах на животных [18, 19].

При менингоэнцефалитах имеет место нарушение кровоснабжения мозга, что приводит к гипоксическим состояниям. В литературе имеются данные о том, что гипоксические состояния не вызывают достоверных изменений концентрации ганглиозидов в ткани мозга [20]. Поэтому снижение содержания ганглиозидов при менингоэнцефалитах не связаны, очевидно, даже частично, с развитием гипоксических состояний, которые имеют место при данной болезни. Некоторые вирусы, например, вирус гриппа, обладают нейраминидазной активностью, однако в литературе нет указаний на существенные изменения содержания и состава ганглиозидов в ткани мозга под влиянием нейраминидазы вирусов, в том числе вируса гриппа [21]. Нами не найдено сколько-нибудь

выраженных изменений состава ганглиозидов серого и белого вещества головного мозга под влиянием вируса гриппа, которые бы свидетельствовали о влиянии нейраминидазы вируса на состав ганглиозидов мозга. В свете этих данных снижение содержания ганглиозидов в мозгу при менингоэнцефалитах различной этиологии, особенно выраженной при герпетических поражениях мозга, представляет собой показатель, который является адекватным биохимическим критерием для количественной оценки степени дегенерации нервных клеток. Данные проведенных биохимических исследований, показавшие снижение содержания ганглиозидов, при всех формах менингоэнцефалитов хорошо согласуются с результатами гистологических анализов.

При герпетических поражениях мозга во всех трех исследованных случаях обнаружено увеличение содержания дисналоганглиозида G₀ по сравнению с контролями того же возраста в 1.6—2 раза. При менингоэнцефалитах другой этиологии существенных изменений нами не было выявлено. Изменение состава ганглиозидов под влиянием нейраминидазы вирусного происхождения в случае менингоэнцефалитов, вызванных вирусом герпеса, представляется маловероятным, так как основным продуктом реакции под воздействием этого фермента являются, как правило, мононалоганглиозиды [22]. Логичнее предположить, что вирус герпеса обладает способностью избирательно ингибировать синайл-трансферазу, осуществляющую перенос N-ацетилнейрамининовой кислоты на G₀и, в результате чего этот ганглиозид не утилизируется и накапливается.

При менингоэнцефалитах различной этиологии сосудистые сплетения боковых желудочков являются местами серьезных поражений. В состав этих структур, основной функцией которых является образование цереброспинальной жидкости, входят мелкие артерии, переходящие в капиллярные сплетения и окутывающие их эпендимоциты. В настоящее время трудно объяснить, чем вызвано увеличение содержания ганглиозидов в сосудистых сплетениях мозга. Можно предположить, что происходит накопление этих липидов в составе мембранных цитоплазматических телец. Накопление ганглиозидов в клетках различных органов и тканей показано для наследственных болезней, вызванных нарушением обмена ганглиозидов [23].

Возможно, что увеличение содержания ганглиозидов в хорноидальных сплетениях связано с тем, что при массивном некрозе мозговой ткани, в том числе и в паравентрикулярных областях, часть веществ, освободившихся в результате распада нервной ткани, попадает в ликвор, а оттуда в сосудистые сплетения. Причина изменений в содержании ганглиозидов в сосудистых сплетениях требует дальнейшего изучения, однако нельзя исключить, что их повышение имеет какое-то защитное значение.

STUDY OF BRAIN AND VASCULAR PLEXIS GANGLIOSIDES IN MENINGOENCEPHALITES OF DIFFERENT ETIOLOGY

KARPOVA O. B., AVROVA N. F., *TSINZERLING V. A.

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

*Research Institute of Infantile Infections, Leningrad

The amount of brain gangliosides and their composition have been studied in 15 cases of meningoencephalitis of various etiology and degree of disease. The most pronounced decrease of ganglioside concentration was found in brain tissue of children, who died from disease caused by herpes virus. Considerable decrease of ganglioside concentration was revealed in the grey matter of brain tissue in patients with influenza virus or meningococcus infection but not in patients with mycoplasma infection. These data provide evidence of nerve cell destruction in brain tissue due to meningoencephalitis of various etiology. The biochemical data obtained are in good agreement with the results of the morphological studies. Significant changes of ganglioside composition were revealed only in brain tissue of children infected by herpes virus: relative content of disialoganglioside GD_{1b} in grey matter of these patients was much higher compared to control values.

Ganglioside content in vascular plexes of patients with meningoencephalitis was, on the contrary, much higher (3–8 fold than in the controls). The increase of gangliosides in dystrophic vascular plexes may have a protective role. Complex studies of biochemical and morphological changes in meningoencephalitis in combination with clinical and etiological studies of the same cases are of importance for better understanding of the pathogenesis of various forms of these diseases.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hess H. H., Bass N. H., Thalheimer C., Davarakonda R. J. *Neurochem.*, v. 26, № 6, p. 1115–1121, 1976.
2. Thangnipon W., Smith R. M., Atkinson D. G., Balaze R. J. *Neurochem.*, v. 44, suppl. S., p. 36, 1985.
3. Pilz H., Helperts R., Seidel D. *Hum. Genet.*, v. 47, № 2, p. 113–134, 1979.
4. Okada S., O'Brien J. *Science*, v. 165, p. 598–700, 1969.
5. Лонгсон М., Бэйли А. Последние достижения в области клинической вирусологии, М., 1980.
6. Holmgren I., Elwing H., Fredman P., Stannegard O., Svennerholm L. *Adv. Exp. Med. Biol.*, v. 125, p. 453–470, 1980.
7. Osborne G. C., Moss J., Fishman P. H., Nakaya S., Robertson D. C. *Biochim. et biophys. acta*, v. 710, № 2, p. 168–169, 1982.
8. Букринская А. Г., Корнилова Т. В., Воркунова Н. К., Тимофеева Н. Г., Шапошникова Г. И., Бергельсон А. Д. *Вопр. вирусологии*, т. 27, № 6, с. 661–666, 1982.
9. Svennerholm L. *Biochim. et biophys. acta*, v. 24, № 4, p. 604–611, 1957.
10. Svennerholm L. *Acta Chem. Scand.*, v. 17, p. 239–244, 1963.

11. *Aurora N. F.* J. Neurochem., v. 18, № 4, p. 667—674, 1971.
12. *Svennerholm L.* Mod. Probl. Paediat., v. 13, № 1, p. 104—115, 1974.
13. *Svennerholm L., Gottfrids C. G., Karlsson J.* J. Neurochem., v. 44, suppl. S, p. 193, 1985.
14. *Puro K., Maury P., Huttunen J. K.* Biochem. et biophys. acta, v. 187, № 2, p. 230—237, 1969.
15. *Аврова Н. Ф., Обухова Е. А.* Успехи соврем. биол., т. 79, № 1, с. 133—147, 1975.
16. *Cherayil G. D.* J. Neurochem., v. 16, № 6, p. 913—920, 1969.
17. *Marchbanks R. M.* J. Neurochem., v. 39, № 1, p. 9—15, 1982.
18. *Marchionatti A. M., Caputto R. L.* Neurochem. Int., v. 6, № 2, p. 219—263, 1984.
19. *Morgan Brain L. G., Winek Myron.* Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., v. 161, № 4, p. 534—537, 1979.
20. *Lowden J. A., Blankier J. J.* J. Neurochem., v. 23, № 2, p. 439—441, 1974.
21. *Bergelson L. D., Bukrinskaya A. D., Prokuzova N. V., Shaposhnikova J. J., Kocharov S. D., Shevchenko V. P., Kornilova J. V., Fomina-Ageeva E. I.* Eur. J. Biochem., v. 128, № 2—3, p. 467—474, 1982.
22. *Velt R. W., Sander M.* Perspectives in the Inherited Metabolic Diseases, v. 4, p. 71—109, 1981.
23. *Brady R. O.* Sphingolipidoses., Ann. Rev. Biochem., v. 47, p. 687—713, 1978.

Поступила 19. I 1987