

ИЗУЧЕНИЕ ЦЕРЕБРОЗИДОВ И СУЛЬФОЦЕРЕБРОЗИДОВ ГОЛОВНОГО МОЗГА ПРИ ДЕЙСТВИИ ГИДРОКОРТИЗОНА

Л.С. ЧАЕВА, М.С. СУВОРОВА, М.А. БЕСПАЛОВА

Санкт-Петербургский государственный университет, НИИ Физиологии
им. А.А. Ухтомского, Университетская наб. 7/9, Санкт-Петербург, 199034, Россия.
Телефон: (812) 218-96-96

Представлены данные о влиянии высокой дозы гидрокортизона на содержание галактоцереброзидов, сульфocereброзидов и холестерина в различных отделах головного мозга растущих крыс. Наиболее существенные изменения соотношения фракций гликолипидов обнаружены в больших полушариях головного мозга и в мозжечке, где наиболее выражен процесс миелинизации у крыс трех недельного возраста. На основании полученных данных можно предположить, что высокие дозы кортикостероидов вызывают нарушение метаболизма важнейших липидов миелина, что влечет развитие нейропатологий, сопровождающихся демиелинизацией ЦНС.

Ключевые слова: головной мозг, цереброзиды, сульфocereброзиды, гидрокортизон, холестерин.

ВВЕДЕНИЕ. Изучение биохимических механизмов регуляторной роли кортикостероидов, в частности глюкокортикоидов, привлекает внимание исследователей, поскольку эти гормоны оказывают множественные биологические эффекты на нервную систему. Действие глюкокортикоидных гормонов на метаболизм липидов головного мозга исследовано в значительно меньшей степени, чем на другие стороны обмена веществ, что, возможно, связано с ранее существовавшим мнением о непроницаемости гематоэнцефалического барьера для гормонов стероидной природы. В настоящее время показано, что они аккумулируются в различных структурах головного мозга, причем рецепторы к глюкокортикоидам обнаружены не только в нейронах, но и в олигодендроцитах, продуцирующих миелин [1].

Особенностью действия глюкокортикоидов является их влияние на количественные изменения липидов в период активной миелинизации нервной системы.

Литературные данные о воздействии глюкокортикоидных гормонов на гликолипиды головного мозга весьма ограничены; практически отсутствуют сведения о молекулярных видах галактоцереброзидов, сульфocereброзидов в разных отделах мозга в условиях измененного гормонального статуса организма. Кортикостероиды вызывают в растущем организме снижение синтеза ДНК, торможение пролиферации клеток и общего роста мозга [2].

Нами было показано, что введение высокой дозы гидрокортизона оказывает значительное влияние на рост и развитие организма, на некоторые биохимические показатели метаболизма липидов головного мозга в ранний период онтогенеза [3].

Данное исследование посвящено более детальному изучению влияния высокой дозы гидрокортизона на индивидуальные гликофинголипиды - цереброзиды и

сульфоцереброзиды, которые являются типичными структурными и функциональными компонентами миелина, в силу чего могут рассматриваться как показатели уровня миелинизации головного мозга.

МЕТОДИКА. Опыты проведены на белых беспородных крысах, которым в возрасте семи дней подкожно вводили суспензию гидрокортизон-ацетата (фирма Гедон-Рихтер, Венгрия) из расчета 0,25 мг на 1 г веса животного. Через 2 недели после введения гормона животных декапитировали, возраст опытных крыс к этому времени составлял 21 день, что соответствовало периоду интенсивной миелинизации. Контрольным животным вводили физиологический раствор.

Общие липиды из различных отделов мозга выделяли по методу Фолча [4], ганглиозиды удаляли 0,1% раствором NaCl [5]. В промытом липидном экстракте определяли содержание суммарных гликолипидов методом Свеннерхольма [6]. Выделение индивидуальных фракций гликолипидов осуществляли методом тонкослойной хроматографии на силикагеле КСК в системе растворителей хлороформ:метанол:конц.аммиак (80:20:0,4). Количественную оценку отдельных фракций цереброзидов и сульфоцереброзидов (Ц) проводили по методу Смит [7]. Общий и эфирносвязанный холестерин определяли по реакции Либермана-Бурхарда. Все использованные методы подробно изложены в методическом руководстве [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Среди липидов головного мозга особая роль принадлежит галактоцереброзидам и их сульфозфирам, которые, как известно, принимают непосредственное участие в формировании мембран миелина, обеспечивая его структурированность и компактность [6,9]. Как следует из данных таблицы 1, общий пул гликофинголипидов неравномерно распределен между изучаемыми отделами головного мозга. У контрольных животных наибольшая концентрация суммарных гликолипидов показана для продолговатого мозга. Содержание указанных липидов в мозжечке в 1,4 раза, в больших полушариях в 2,4 раза ниже, чем в продолговатом мозге (Табл.1).

Таблица 1. Влияние гидрокортизона на содержание суммарных гликолипидов в разных отделах головного мозга растущих крыс (мг/г влажной ткани)

Отдел мозга	Контроль	Гидрокортизон
Большие полушария	7,32 ± 0,24	6,40 ± 0,01
Мозжечок	13,00 ± 0,63	15,44 ± 0,42
Продолговатый мозг	19,00 ± 0,51	14,20 ± 1,78

$p < 0,05$ - для всех определений, (n=6).

Введение гормона вызвало неоднозначное изменение содержания гликолипидов: в больших полушариях и продолговатом мозге их содержание снизилось на 17,0 и 23,0%, соответственно, а в мозжечке возросло на 18%. Подобный характер изменения липидов, вероятно, объясняется различным ответом функционально-специализированных структур мозга на гормональный эффект [10]. Повышение гликофинголипидов в мозжечке, возможно, связано со спецификой их гликолипидного состава [11].

Известно, что структурное разнообразие цереброзидов мозга обусловлено прежде всего вариациями жирнокислотного состава их керамидного компонента. Для нормального функционирования нервной системы необходим постоянный фракционный состав этих гликолипидов и их сульфозфиров, в связи с чем представлялось важным выяснить, в какой степени гидрокортизон влияет на состав и содержание индивидуальных гликофинголипидов. Нами выделены и охарактеризованы две фракции цереброзидов: Ц₁ - содержат преимущественно оксикислоты, Ц₂ - в которой преобладают нормальные кислоты и сульфоцереброзиды (СЦ) [12]. Результаты приведены в таблице 2.

Таблица 2. Содержание фракций цереброзидов и сульфocereброзидов в отделах головного мозга крыс в норме и при действии гидрокортизона (мг/г влажной ткани)

Отдел мозга	Условия опыта	Фракции гликолипидов		
		Ц ₁	Ц ₂	СЦ
Большие полушария	Контроль	*3,70 ± 0,12	2,33 ± 0,22	*1,29 ± 0,11
	ГК	1,65 ± 0,21	2,90 ± 0,41	1,85 ± 0,12
Мозжечок	Контроль	6,36 ± 0,26	3,76 ± 0,29	*2,88 ± 0,48
	ГК	6,22 ± 0,11	3,82 ± 0,38	5,40 ± 0,40
Продолговатый мозг	Контроль	9,26 ± 0,48	*4,82 ± 0,04	*4,92 ± 0,32
	ГК	7,91 ± 0,92	3,27 ± 0,24	3,02 ± 0,16

* - изменения статистически достоверны ($p < 0,05$), $n = 6$

Полученные данные свидетельствуют о том, что продолговатый мозг наиболее обогащен цереброзидами (Ц₁ + Ц₂) - 14,08 мг/г влажной ткани, в мозжечке их содержание составляет 10,12 мг/г влажной ткани и в наименьшем количестве цереброзиды представлены в больших полушариях - 6,03 мг/г влажной ткани. По содержанию сульфocereброзидов исследованные отделы мозга можно расположить в той же последовательности: продолговатый мозг > мозжечок > большие полушария.

Под влиянием гидрокортизона наиболее существенно изменилось содержание фракций Ц₁ и СЦ в представленных отделах головного мозга. При действии гормона содержание фракции Ц₁ снизилось в полушариях 2,2 раза; содержание СЦ, напротив, возросло в 1,4 раза. В мозжечке действие гидрокортизона вызвало существенное увеличение содержания СЦ в (1,9 раза), тогда как содержание фракций цереброзидов не изменилось. В продолговатом мозге при действии гормона достоверно снизилось содержание Ц₂ и СЦ, в среднем на 32% для каждой фракции.

Таким образом, введение высокой дозы гидрокортизона оказало существенное влияние на содержание цереброзидов и сульфocereброзидов практически во всех исследованных отделах головного мозга 3-х недельных крыс, то есть в период активной миелинизации.

Одной из важных характеристик липидного состава мембран миеллина является соотношение их гликолипидных компонентов, в частности, цереброзидов и их сульфозэфиров, что обеспечивает устойчивость структуры миеллина. Данные по процентному соотношению гликолипидных фракций представлены в таблице 3.

Таблица 3. Соотношение фракций цереброзидов и сульфocereброзидов в отделах мозга крыс в норме и при действии гидрокортизона (% от суммы);

Отдел мозга	Условия опыта	Фракции гликолипидов		
		Ц ₁	Ц ₂	СЦ
Большие полушария	Контроль	*50,5 ± 2,3	*31,8 ± 2,4	*17,6 ± 2,4
	ГК	25,8 ± 2,9	45,3 ± 0,8	28,9 ± 2,5
Мозжечок	Контроль	*48,9 ± 2,4	28,9 ± 0,9	*22,1 ± 1,4
	ГК	40,3 ± 0,4	24,7 ± 2,9	34,9 ± 4,2
Продолговатый мозг	Контроль	49,9 ± 3,2	*25,9 ± 0,4	24,2 ± 2,9
	ГК	55,7 ± 2,9	23,0 ± 0,3	21,3 ± 0,9

• - различия статически достоверны ($p < 0,05$), $n = 5$.

Как следует из полученных данных, у контрольных животных трех недельного возраста во всех исследованных отделах головного мозга в процентном отношении преобладают цереброзиды Ц₁, составляющие около 50% от суммы. На долю фракции Ц₂ приходится 25-30%, СЦ представлены в наименьшем количестве 17-24%.

При воздействии гидрокортизона наиболее существенно изменилось процентное соотношение фракций гликолипидов в больших полушариях головного мозга, а именно, - обнаружено резкое снижение относительного содержания Ц₁, почти в два раза по сравнению с контролем, тогда как доли фракций Ц₂ и СЦ увеличились примерно в равной степени (на 11-13%). В мозжечке увеличилось относительное содержание СЦ с 22% в контроле до 35% при действии гормона. В продолговатом мозге существенного изменения процентного соотношения фракций гликолипидов не выявлено.

Таким образом, введение высокой дозы гидрокортизона вызвало наиболее существенное изменение соотношения фракций гликофинголипидов в больших полушариях головного мозга и в мозжечке, то есть в тех отделах, где наиболее выражен процесс миелинизации мозга у крыс трех недельного возраста.

Известно, что наряду с гликофинголипидами и фосфолипидами обязательным структурным и функциональным компонентом церебральных мембран является холестерин (ХС). Как компонент мембран миелина, ХС обеспечивает жесткость и упорядоченность всей мембранной структуры. В мозге взрослых животных ХС присутствует главным образом в свободном виде, тогда как в развивающемся мозге до 20% общего холестерина составляют его эфиры (ЭХС). В таблице 4 представлены полученные нами данные, позволяющие судить об изменении ХС в мозге растущих крыс в результате последствие высокой дозы гидрокортизона (Табл.4).

Таблица 4. Содержание холестерина и эфиров холестерина в больших полушариях мозга крыс в контроле и при действии гидрокортизона (мг/г влажной ткани)

Общий холестерин		Эфиры холестерина	
Контроль	ГК	Контроль	ГК
10,92 ± 0,52	8,95 ± 0,31	1,47 ± 0,18	1,98 ± 0,06

$p < 0,05$ - для всех определений, $n = 5$.

Как следует из полученных данных, доля ЭХС у контрольных животных составляет 13,5% от общего ХС. При воздействии гормона его содержание возрастает до 22% на фоне снижения содержания общего ХС. Нарастание ЭХС в нервной ткани наблюдается при различных демиелинизирующих нарушениях, связанных, как правило, с деградацией миелина [13].

Полученные данные об изменении состава и содержания цереброзидов, сульфocereброзидов, холестерина мозга согласуются с представлением о том, что изменения мембранных липидов могут служить первичным сигналом в действии кортикостероидов. Выявленные изменения основных миелиновых липидов развивающегося мозга можно рассматривать как доказательство нейробиологических изменений в результате последствие высокой дозы гидрокортизона. Эти биохимические показатели могут быть использованы в качестве специфического критерия уровня миелинизации и структурированности миелина при действии высоких доз кортикостероидов. Важно отметить, что высокие концентрации этих гормонов особенно опасны для формирующегося мозга, поскольку, нарушая метаболизм важнейших липидов миелина, они могут привести к необратимым изменениям его структуры и, как следствие, к развитию нейропатологий, сопровождающихся демиелинизирующим поражением ЦНС.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cintra A., Bhatnagar M., Chodi G., et al. (1994). Ann. N.Y. Acad. Sci. - 746, 42-63.
2. Meyer J.S. (1985). Physiol. Rev., 65, 946-1020.
3. Чаева Л.С., Суворова М.С., Беспалова М.А. и др. (1997). Вестник СПбГУ., N 10, 68-71.
4. Folch J., Ascoli J., Lees M. et al. (1951). J. Biol. Chem., 191, 833-841.
5. Svennerholm L. (1956). J. Neurochem. 1, 42-53.
6. Norton W.T. (1981). Demyelinating Disease: Basic and Clinical Electrophysiology, (eds. S.G.Waxman and J.M.Ritchie). Raven Press, New York., pp. 93-121.
7. Smith M.E. (1967). Adv. Lipid Res., 5, 241-278.
8. Методы биохимических исследований. (ред. М.И.Прохорова). (1982). Л., с. 81-91.
9. Vos J.P., Lopes-Cardazo M., Gadella B.M. (1994). Biochim. Biophys. Acta., 1211, 125-149.
10. Емельянов Н.А., Герасимова И.А. (1990). Кортикостероиды и обмен веществ в мозгу. - Л.
11. Furyya S. (1995). RIKEN, Rev. - N 8, 51-52.
12. Чаева Л.С. (1977). Вопросы мед.химии., N 5, 646-649.
13. Morell P., Bornstein M.B., Raine C.S. (1981). Basic Neurochem, Boston: Little Brawn., pp. 641-659.

THE INFLUENCE OF HYDROCORTISONE ON BRAIN CEREBROSIDES AND SULFOCEREBROSIDES

L.S.CHAEVA, M.S.SUVOROVA, M.A.BESPALOVA

Sanct-Petersburg State University. Laboratory of Nervous System Biochemistry,
University embankment 7/9, Sanct-Petersburg, 199034,
Russia. Tel.: (812)218-96-96

The influence of the high dose of hydrocortisone on the content of galactocerebrosides, sulfocerebrosides and cholesterol was studied in different regions of growing rat brain. The most distinct alterations in content and relationship of glycolipids were demonstrated in brain hemisphere and cerebellum. The results allow to suggest a conclusion about changes in myelin's lipid metabolism and disturbance of myelinogenesis after high dose hydrocortison injection.

Key words: brain, galactocerebrosides, sulfocerebrosides, hydrocortisone, cholesterol