

## ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ГЛИКОЛИПИДОВ В МОЗГЕ КРЫС С РАЗЛИЧНОЙ УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ГИПОКСИИ ПРИ АККЛИМАЦИИ К ПОНИЖЕННЫМ ТЕМПЕРАТУРАМ

Л.Е.КОЗУЛИНА, В.М.ЯКОВЛЕВ

Институт физиологии и экспериментальной патологии высокогорья  
АН Республики Кыргызстан, Бишкек

При акклимации крыс к пониженным температурам (+3°C в течение 30 сут.) существенные изменения содержания гликофинголипидов в мозге наблюдались в первые 6 часов и возвращались к исходным величинам в последующие сроки.

Акклимационные сдвиги содержания сульфатидов, и в меньшей степени цереброзидов и ганглиозидов, зависят от гипоксической устойчивости крыс.

Одной из важнейших функций липидов клеточных мембран является компенсация неблагоприятных или измененных условий среды [1].

Показано, что в различных тканях, включая мозг, при акклимации крыс к пониженным температурам изменяются содержание различных мембранных фосфолипидов, насыщенность их жирных кислот, скорость ротации их гидрофильных “головок” и жирнокислотных “хвостов”, величина свободных липидных зон и доля неупорядоченной конформации мембранных белков; появляются лизофосфатиды; изменяется количество фосфоинозитидов — источников вторичных липидных мессенджеров и др. [2].

Несмотря на то, что эти данные значительно расширяют наши представления о мембранной и молекулярной организации приспособительного процесса, сущность воздействия пониженных температур на липиды и белки мембран и, следовательно, на функциональные отправления клетки во многом неясна.

В частности, практически не изучена роль рецепторной части мембран, хотя известно, что компоненты рецепторов — гликофинголипиды, располагаясь в клеточной мембране, опосредуют взаимодействие клетки с ее окружением, участвуют в трансдукции внешнего сигнала через мембрану в клетку. При этом концентрация гликофинголипидов клеточной поверхности гораздо более чувствительна к различным, в том числе незначительным по масштабу, изменениям внешней среды, чем концентрация белков [3].

Имеются данные о роли нейтральных гликолипидов в активации ионного транспорта [4], в индукции клеточного роста, дифференциации, регуляции протеинкиназ [5], в передаче нервного импульса и синаптогенезе [3].

Таким образом, гликофинголипиды с их полифункциональными свойствами являются незаменимым структурным компонентом приспособления клетки, ткани, органа и организма к изменившимся условиям среды. Однако уровни и динамика содержания гликолипидов в тканях и мембранах теплокровных животных при воздействии пониженных температур, а также их роль в организации приспособительного процесса практически не исследованы. Так как гликофинголипиды, помимо всего прочего, участвуют и в защите  $\beta$ -адренорецепторов от повреждающего воздействия ПОЛ [6], можно предположить, что происходят особенные изменения гликолипидного спектра у животных с различной гипоксической устойчивостью с их различной долей легко- и трудноокисляемых классов фосфолипидов в мембранах [2].

В связи с этим целью данной работы явилось выяснение степени и динамики изменений содержания ганглиозидов, цереброзидов и сульфатидов в ткани мозга крыс с различной устойчивостью к гипоксии при адаптации к пониженным температурам.

**Методика.** В работе использовали белых лабораторных крыс-самцов линии Вистар с массой тела 180—200 г. Животные были разделены на низко-, средне- и высокоустойчивые к гипоксии группы по методу Кугимия и соавт. [7], затем подвергнуты воздействию пониженной температуры при 3°C в течение 30 дней. Крыс декапитировали через 30 мин, 6 ч, 3 и 30 сут акклимации.

Ганглиозиды экстрагировали из ткани мозга по методу Фолча в модификации Сузуки [8] и определяли резорциновым методом [9]. Цереброзиды и сульфатиды выделяли методом одномерной тонкослойной хроматографии на силикагеле КСК в системе растворите-

Таблица 1

Изменение содержания гликолипидов в ткани мозга крыс при акклимации к пониженным температурам (3°C)

Длительность экспозиции	n	Класс гликолипидов			
		ганглиозиды, мкг/г	цереброзиды, мг/г		сульфатиды, усл. ед/г
			с нормальными жирными кислотами	с оксигирными кислотами	
Контроль	6	374,6±5,7	1,99±0,30	4,47±0,50	23,3±1,2
30 мин	10	347,3±31,5	1,46±0,13	2,49±0,29***	104,4±21,6**
6 ч	10	259,6±28,0**	1,15±0,16*	2,00±0,32***	106,3±19,9**
3 суток	10	320,0±22,0	2,56±0,34	3,91±0,29	-
30 суток	10	319,3±23,1	2,88±0,11**	4,69±0,14	-

Примечание. Здесь и в табл. 2 одна звездочка —  $p < 0,05$ , две —  $p < 0,02$ , три —  $p < 0,01$  (сравнение с контролем).

лей хлороформ—метанол—вода (70:30:5). Содержание цереброзидов определяли по Свенгерхольму в модификации де Врис и Нортон [10]. Сульфатиды определяли фотометрически с азуром А по методу Кина [11].

**Результаты и обсуждение.** Из результатов, приведенных в табл. 1, видно, что уже на 30-й минуте воздействия пониженной температуры в мозге увеличивается содержание сульфатидов и снижается количество цереброзидов с оксигирными кислотами. К 6 ч экспозиции меняется содержание всех изучаемых гликофинголипидов; в частности, к отмеченным выше сдвигам присоединяется падение содержания цереброзидов с нормальными жирными кислотами и ганглиозидов.

В последующие периоды акклимации содержание гликолипидов практически возвращается к исходным величинам, но сохраняется несколько меньший уровень на 3-и и даже на 30-е сутки.

Быстрое падение содержания ганглиозидов и цереброзидов, возможно, связано с активацией липолиза при низких температурах [12] и/или с их приспособительной деструкцией с последующим синтезом гликолипидных рецепторных компонентов de novo, адекватных новым условиям среды [3,13]. Это подтверждается возвращением уровня изучаемых гликофинголипидов к норме в последующие сроки экспозиции. Вероятнее всего, молекулярная структура вновь синтезированных ганглиозидов отличается от исходной, однако это предположение нуждается в экспериментальной проверке.

Полагают, что цереброзиды и сульфатиды адаптивной изменчивости не проявляют [7], и с этих позиций трудно оценить факт увеличения содержания сульфатидов в первые 6 ч экспозиции. Оценка затруднительна и потому, что отсутствуют данные по их дальнейшей динамике. Возможно, что полученные в данной работе изменения количества гликолипидов обусловлены мерой использования их керамидов для адаптивной модуляции процессов репликации и транскрипции в ядре [14].

У крыс, являющихся конформерами, в первые несколько суток акклимации к пониженным температурам снижается температура тела на 2—3°C [15], что увеличивает липолиз [16], и это, возможно, тоже накладывает отпечаток на количественные показатели ганглиозидов и цереброзидов.

Из данных табл. 2 следует, что при акклимации крыс к 3°C динамика содержания гликофинголипидов в ткани мозга в группах с различной устойчивостью к гипоксии различная. В частности, в группе низкоустойчивых животных происходит наиболее значительное и наиболее стойкое падение содержания ганглиозидов (вплоть до окончания наблюдений).

В течение 3 суток экспозиции в этой группе поддерживается сниженный уровень цереброзидов с нормальными жирными кислотами, а в первые 6 ч наблюдается резкое падение содержания обоих типов цереброзидов. Кроме того, у низкоустойчивых к гипоксии крыс по сравнению со средне- и высокоустойчивыми отмечается незначительное и кратковременное (только в первые 6 ч экспозиции) увеличение содержания сульфатидов.

Наиболее стойкое и существенное увеличение количества гликофинголипидов этого класса, а также менее значительные акклимационные сдвиги ганглиозидов и цереброзидов характерны для группы высокоустойчивых к гипоксии крыс. Животные со средней устойчивостью, как видно из табл. 2, занимают промежуточное положение.

Эти первые данные по акклимационной динамике содержания гликофинголипидов мозга в зависимости от гипоксической устойчивости пока не поддаются однозначной интерпретации.

Таблица 2

Изменение содержания гликолипидов в ткани мозга крыс с различной устойчивостью к гипоксии при акклимации к пониженным температурам (3°C)

Длительность экспозиции	Группы	n	Класс гликолипидов			
			ганглиозиды, мкг/г	цереброзиды, мг/г		сульфатиды, усл. ед/г
				с нормальными жирами кислотами	с оксигирными кислотами	
Контроль		6	374,6±5,7	2,0±0,13	4,5±0,50	23,3±1,2
30 мин	Н	6	319,7±20,7*	1,56±0,14*	2,30±0,34**	53,4±18,3
	С	6	356,1±50,2	1,74±0,12	3,00±0,54	68,5±14,2*
	В	6	352,7±32,5	1,28±0,19*	2,37±0,23***	171,6±22,7**
6 ч	Н	5	285,8±7,3**	0,64±0,08**	0,93±0,14**	39,2±2,4*
	С	5	299,6±12,8*	1,38±0,14*	2,71±0,49	118,1±4,0***
	В	5	238,3±40,0*	1,56±0,14	2,57±0,34**	168,3±12,6**
3 суток	Н	5	267,5±21,3**	1,45±0,12*	3,39±0,55	105,8±14,4**
	С	5	310,6±11,6*	3,52±0,23*	4,42±0,18	-
	В	5	356,3±48,1	2,50±0,32	4,19±0,19	148,6±6,1***
30 суток	Н	5	249,8±30,3*	2,44±0,27	4,34±0,06	-
	С	5	290,6±7,90*	2,54±0,10	4,73±0,27	-
	В	5	394,3±15,1	3,02±0,23	4,82±0,13	-

Примечание. Н — низкоустойчивые, С — среднеустойчивые, В — высокоустойчивые к гипоксии крысы.

С одной стороны, более существенное и стойкое падение содержания ганглиозидов и цереброзидов, а также незначительное по сравнению с другими группами увеличение сульфатидов у крыс низкоустойчивой группы можно было бы расценить как менее совершенную систему их синтеза de novo, т. е. как свидетельство менее совершенной организации приспособительного процесса. Однако не исключено, что различные уровни гликофинголипидов в группах — явление вторичное, обусловленное разными темпами и условиями и перекисной и фосфолипазной деградации.

Очевидно, что для познания сущности и роли акклимационных и адаптационных изменений гликофинголипидного спектра в тканях и мембранах требуются дальнейшие исследования.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Крепс Е.М. Липиды клеточных мембран: Эволюция липидов мозга: Адаптационная функция липидов. — Л., 1981.
2. Яковлев В.М., Терновой В.А., Михайлов И.В. // Изв. АН КиргССР. — 1990. — N2. — С. 99—104.
3. Хакомори С.-И. // В мире науки. — 1986. — N7. — С. 12—22.
4. Мхейян Э.Е., Соцкий О.П., Акопов С.Э., Баджиян С.А. // Всесоюзный биохимический съезд, 4-й: Тезисы науч. сообщений. — М., 1979. — Т. 1. — С. 218.
5. Nanai M., Nokes G.A., Vaeleed D. et al. // J. Biol. Chem. — 1988. — Vol. 263. — P. 10915—10921.
6. Тюрин В.А., Кузнецова Л.А., Тюрина Ю.Ю. и др. // Бюб. exper. биол. — 1991. — N6. — С. 597—599.
7. Kugimia T., Suwa K., Inada Y. et al. // Tohoku J. exp. Med. — 1984. — Vol. 144. — P. 315—320.
8. Susuki K. // J. Neurochem. — 1965. — Vol. 12, N 12. — P. 969—978.
9. Avrova N.F. // J. Neurochem. — 1971. — Vol. 18, N 4. — P. 667—674.
10. Левитина М.В., Абрамова Л.Н., Крепс Е.М. // Физиология и биохимия морских и пресноводных животных. — Л., 1979. — С. 89—128.
11. Kean L.E. // J. Lipid Res. — 1968. — Vol. 9, N 3. — P. 319—327.
12. Хаскин В.В. Энергетика теплообразования и адаптация к холоду. — Новосибирск, 1975.
13. Введение в мембранологию: Учеб. пособие / Под ред. А.А. Болдырева. — М., 1990.
14. Пушкарева М.Ю., Болдырева О.В., Алексеенко А.В. // Биохимия. — 1991. Т. 56, вып. 5. — С. 903—912.
15. Экологическая физиология животных. — Л., 1979. — Ч. 1.
16. Ленинджер А. Основы биохимии: Пер. с англ. — М., 1985. — Т. 2. — С. 643.

#### CHANGES IN BRAIN GLYCOLIPID CONTENT IN RATS WITH DIFFERENT TOLERANCE TO HYPOXIA AT ACCLIMATION TO LOW TEMPERATURES

L.E.Kozulina, V.M.Yakovlev

Institute of Hight-Altitude Physiology and Experimental Pathology of the Kirghiz Rep. National Academy of Sciences. Bishkek.

Acclimation of rats to cooling (+3°C for 30 days) is accompanied by changes in the content of gangliosides, cerebrozides and sulfatides of brain during 6 hours, returned to the control level in next periods of acclimation. Changes in the content of sulfatides, and in smaller degree of cerebrozides and gangliosides depend from hypoxic stability of rats.