

A. P. A. Wöhrmann, Institut für Polarökologie

## Welche Rolle spielen Lipide im Nervensystem polarer Fische?

Lipide sind wasserunlösliche organische Biomoleküle. Es gibt sehr unterschiedliche Lipide, bei allen werden jedoch die charakteristischen Eigenschaften durch das Kohlenwasserstoffskelett ihrer Struktur bestimmt. Lipide haben verschiedene wichtige Funktionen: nämlich (1) als strukturelle Bestandteile von Membranen, (2) als Speicher- und Transportform metabolischer Brennstoffe, (3) als schützende Oberflächenschicht bei vielen Organismen und (4) als Bestandteil der Zelloberfläche, die bei Zell-Erkennung, Art-Spezifität und Gewebs-Immunität eine Rolle spielen. Eine spezielle Funktion haben die Lipide außerdem bei antarktischen Fischen der Unterordnung Notothenioidei, denen eine Schwimmblase fehlt: sie dienen hier als Auftriebshilfe.

Generell kann man sagen, daß Lipide in den verschiedenen Organen eines Organismus ähnliche Funktionen erfüllen; so sind z. B. die Phospholipide wichtige Bestandteile aller Zellmembranen. Allerdings ist die Priorität der einzelnen Lipidklassen in den verschiedenen Organen unterschiedlich. Darauf ist sicher auch in großem Maße die unterschiedliche Funktionalität zurückzuführen. In dem hochspezialisierten Nervensystem der Wirbeltiere ist eine ganz besondere Zusammensetzung von Lipiden zu finden. Die meisten Lipide gehören hier zu den Klassen Steroide (Cholesterin), Phospholipide und Glycolipide. Die chemische Struktur der cerebralen Lipide ist sehr unterschiedlich, aber mit Ausnahme des Cholesterins enthalten sie alle langkettige, aliphatische Säuren (oder auch einen langkettigen Alkohol oder eine Base).

Das Cholesterin ist ein Hauptbestandteil der Myelinschicht. Im Gegensatz zu anderen Organen, in denen Cholesterin-Ester überwiegen, findet sich das Cholesterin in den Zellmembranen sowie besonders im Myelin des Hirns fast ausschließlich in löslicher Form. Den Phospholipiden kommt im Nervensystem der Wirbeltiere eine ähnliche Aufgabe zu wie in anderen Organen. Allerdings konnten auch einige Besonderheiten beobachtet werden: so zeigen in-vivo-Experimente eine Verbindung zwischen dem Phospholipid-Metabolismus und dem Funktionieren des Hirns. So ändern sich z.B. der Gehalt und die Zusammensetzung in Abhängigkeit vom Alter oder der Temperatur. Das Bestreben des Organismus ist es dabei, die Fluidität der Plasmamembran möglichst konstant zu halten. In ungewöhnlich hoher Konzentration kommen Glycolipide im Nervensystem vor. Ihre Funktion ist allerdings in weiten Teilen unbekannt. Das Galactocerebroside z.B. ist das wichtigste Glycolipid des Myelin. Der Anteil an der äußeren Membranschicht beträgt nahezu 40 %. Die komplexesten Glycolipide sind die Ganglioside. Sie enthalten einen oder mehrere Sialinsäurereste und erhalten dadurch eine negative Ladung. Reichlich vorhanden sind die Ganglioside besonders in der Plasmamembran der synaptischen Nervenendigungen, wo sie 5 - 10 % der gesamten Lipidmasse ausmachen. Es gibt nur wenige indirekte Hinweise darauf, welche Funktionen Glycolipide haben könnten. Das Gangliosid GM1 dient zum Beispiel als Zelloberflächenrezeptor für das bakterielle Cholera-Toxin. Wahrscheinlich spielen Ganglioside auch eine Rolle als Rezeptor für Transmittersubstanzen, bei der synaptischen Transmission und der Nervenzelldegeneration (ALBERTS et al. 1989).

Eine biochemische Besonderheit antarktischer Fische, die wahrscheinlich eine Rolle in der Temperaturkompensation des Nervensystems spielt, ist die Zunahme der Lipidfluidität (COSSINS & BOWLER 1987). Es gibt verschiedene Gründe für die Erwartung, daß die Zellmembranen antarktischer Fische eine höhere Fluidität bei niedrigen Temperaturen haben als die von Fischen warmer Klimazonen. Seit langem ist bekannt, daß Ectotherme kalter Regionen einen höheren Anteil ungesättigter Fettsäuren im Nervensystem haben als in ihren Fettdepots (LEWIS 1962), und bei antarktischen nototheniiden Fischen konnte ein ähnlicher Trend beobachtet werden (BOTTINO et al. 1967; MORRIS & SCHNEIDER 1969; PATTON 1975; MEYER-ROCHOW & PYLE 1980). Bei einer gegebenen Temperatur tendieren ungesättigte Lipide dazu, weniger viskos zu sein als gesättigte Lipide derselben Molekülgröße. Einige dieser ungesättigten Fettsäuren sind in die Zellmembran eingebaut und garantieren so eine erhöhte molekulare Mobilität in der Membran bei niedrigen Temperaturen. Dieses Phänomen wird als "homeoviscous adaptation" bezeichnet (SINENSKY 1974). Bei Membranpräparationen von Hirnen von Fischen der Nordhemisphäre konnte eine strenge Korrelation zwischen dem Anteil ungesättigter Fettsäuren und der Fluidität der Membran beobachtet werden. Weiterhin korrelieren beide Parameter mit der Umgebungstemperatur der untersuchten Fische (COSSINS & PROSSER 1978). Ähnliches trifft auch für den Fettsäureanteil der Ganglioside des Nervensystems zu (AVROVA et al. 1986).

Nach früheren Untersuchungen zeigen aber auch Teile der Kopfgruppe von Gangliosiden, die Sialinsäuren, eine Temperaturkorrelation. Ganglioside von kalt-adaptierten poikilothermen Arten (u. a. *Trematomus hansonii*) haben höhere Konzentrationen von Sialinsäuren und polare Gruppen als die von warm-adaptierten Fischen (RAHMANN & HILBIG 1980; RAHMANN et al. 1984). Der Effekt dieser Differenzen auf die Membranfluidität konnte allerdings bisher nicht demonstriert werden. SWEZEY & SOMERO (1982) vermuten aber, daß eine Zunahme polarer Bindungen in Untereinheiten polymerer Proteine in Zusammenhang stehen könnte mit der Labilität von Molekülen, und dies könnte auch der Fall bei Gangliosiden sein.

Um der Hypothese 'Je niedriger die Körpertemperatur, desto höher der Gehalt an polaren Gangliosiden', und der damit verbundenen Forderung nach einer neuen molekularen Anpassung antarktischer Fische neben den Gefrier-schutzproteinen abermals nachzugehen, konnte ich während EPOS 3 neue Hirnproben nehmen. Die Isolierung von Glycolipiden aus Fischhirnen ist eine sehr problematische Angelegenheit. Einerseits ist ein Fischhirn relativ klein, andererseits sind Glycolipide auf Grund ihrer physikalischen Eigenschaften schwer zu trennen. Einen besonderen Fall stellen dabei die Ganglioside dar, da sie sowohl lipophil, als auch hydrophil sind. Die lyophilisier-ten Gehirne werden in Chloroform/Methanol/Wasser-Gemischen homogenisiert und die Ganglioside extrahiert. Nach der Reinigung mittels verschiedener Gelfiltrationsverfahren kann das Gangliosidgemisch, wie auch die ande-ren Glycolipide, mit der Dünnschichtchromatographie qualitativ und quantitativ aufgeschlüsselt werden.

Untersucht wurden die pelagischen Arten *Pleuragramma antarcticum* und *Aethotaxis mitopteryx*, die benthopela-gischen Nototheniidae *Pagothenia bernacchii* und *Trematomus lepidorhinus*, die Channichthyidae *Neopagetopsis ionah*, *Chionodraco myersi* und *Pagetopsis maculatus*, sowie der benthische *Bathhydraco marri*. In Abbildung 1 sind die untersuchten Arten zu ihrem Fanggebiet und Fangtiefe aufgetragen. Außerdem ist ein Temperaturprofil von der nordöstlichen Atka Bucht bis zur südlichen Gould Bay dargestellt. Die Fangregionen geben nur eine grobe Andeutung der tatsächlichen Verbreitung. So kommt z.B. *B. marri* nicht nur im Bereich des Filchner Gra-bens sondern auch in der Lazarev See vor, und *A. mitopteryx* wurde nicht nur in Tiefen von 800 m, sondern auch oberhalb 300 m gefangen. In Abbildung 2 ist ein typisches Hirngangliosidmuster (1-dimensionale-Dünn-schichtchromatographie; HPTLC) wiedergegeben. Das Gangliosidgemisch wird unten auf die beschichtete Glas-platte aufgetragen und läuft nach oben, die polarerer Ganglioside langsamer als die weniger polaren. Als Standard diente dabei ein Gemisch aus verschiedenen käuflichen Gangliosiden und der Gangliosidextrakt aus Hirnen von Hühnerembryonen. Standards höher als vierfach sialisierte Ganglioside (GQ1b) sind bisher kommerziell nicht verfügbar. Die Buchstaben a, b bzw. c geben Auskunft über den Biosyntheseweg der Ganglioside.

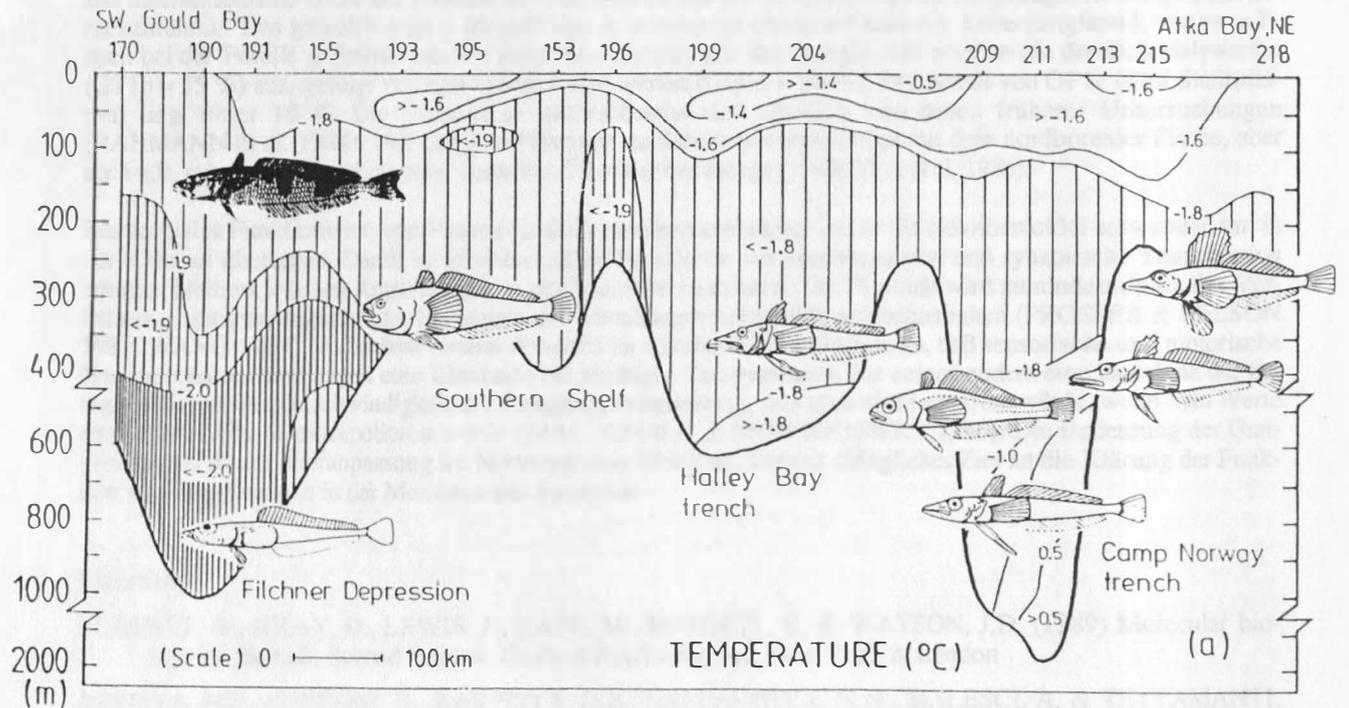
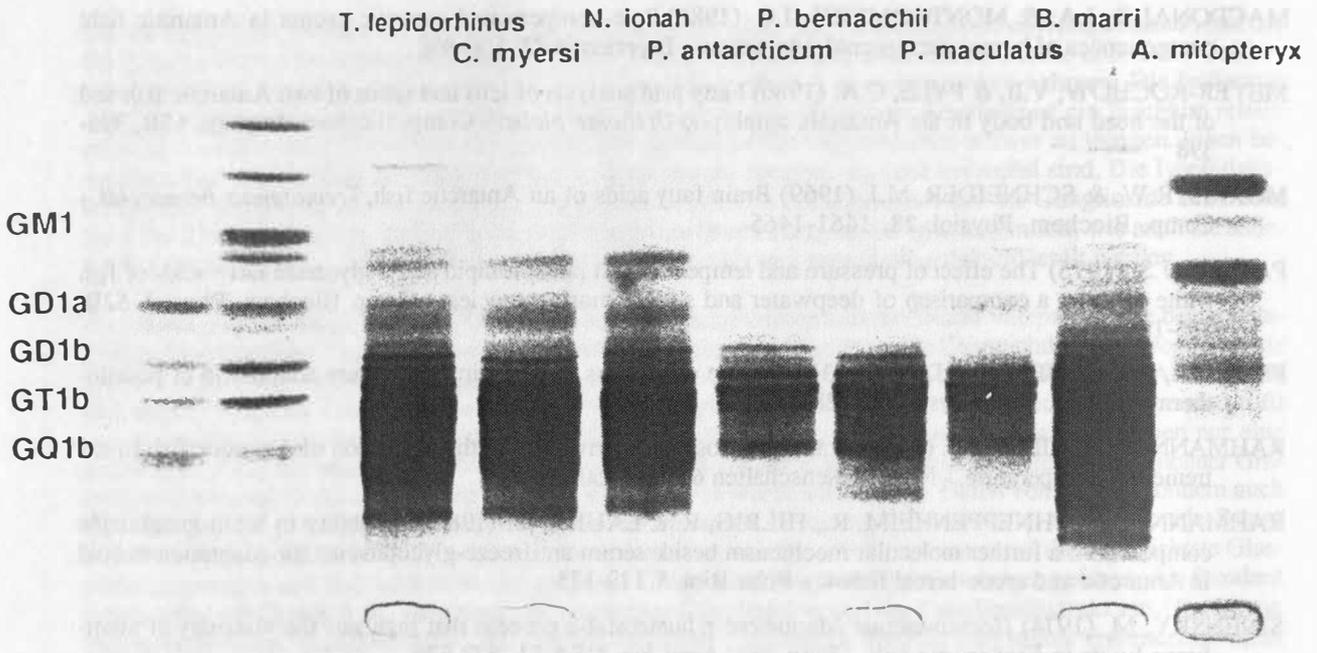
Das Hirngangliosidmuster aller untersuchten Arten sieht sehr ähnlich aus. Lediglich bei *B. marri* ist noch eine Bande unter den anderen auszumachen, die einem Gangliosid mit sechs Sialinsäuren zugeordnet werden könnte. Die unterschiedliche Dicke der Banden ist ausschließlich auf die Konzentration der aufgetragenen Ganglioside zu-rückzuführen. Das gänzlich andere Muster von *A. mitopteryx* charakterisiert ein Lebergangliosid, wie es z.B. auch bei der Forelle gefunden werden kann. Die Hauptmasse der Ganglioside machen die dreifach sialysierten (GT1b  $\approx$  35 %) aus, gefolgt von den vierfach sialysierten (GQ1b  $\approx$  30 %). Der Anteil von GP1c (fünf Sialinsäu-ren) liegt unter 10 %. Die Ergebnisse unterscheiden sich deutlich von denen früherer Untersuchungen (RAHMANN et al. 1984). Das Gangliosidmuster ist durchaus vergleichbar mit dem nordborealer Fische, aber auch z.B. mit dem des mediterranen Barsches *Dicentrachus labrax* (AVROVA et al. 1986).

Ein normales Funktionieren von Plasma- und Organellenmembranen ist für die Notothenioidei notwendig, um in der Kälte zu überleben. Damit so lebenswichtige Funktionen wie Ionen-transport und synaptische Transmission erhalten bleiben, müssen Anpassungen in der Membran existieren. Die Fluidität wird zumindest durch das Ver-hältnis gesättigter/ungesättigter Fettsäuren der Membranphospholipide aufrechterhalten (PROSSER & NELSON 1981; WANG 1989). Außerdem deuten Arbeiten an notothenioiden Fischen an, daß sensorische und motorische Nerven resistent sind gegen eine Blockade bei niedrigen Temperaturen. Sie zeigen zudem eine Zunahme der Er-regbarkeit und der Geschwindigkeit der Erregungsweiterleitung, was man nicht erwarten würde, wenn man Werte temperierter Fische extrapolieren würde (MACDONALD & MONTGOMERY 1986). Die Bedeutung der Gan-glioside bei dieser Kaltanpassung im Nervensystem ist unklar. Vorerst dringliches Ziel ist die Klärung der Funk-tion von Gangliosiden in der Membran der Synapsen.

## Literatur

- ALBERTS, B., BRAY, D., LEWIS, J., RAFF, M., ROBERTS, K. & WATSON, J.D. (1989) Molecular bio-logy of the cell. Second Edition. Garland Publishing, Inc. New York & London
- AVROVA, N.F., GHIDONI, R., KARPOVA, O.B., NALIVAYEVA, N.N., MALESCI, A. & TETTAMANTI, G. (1986) Systematic position of fish species and ganglioside composition and content. - Comp. Bio-chem. Physiol. 83B(3), 669-676
- BOTTINO, N.R., JEFFREY, L.M. & REISER, R. (1967) The lipids of Antarctic fish. - Antarctic J. USA 2, 194-195
- COSSINS, A.R. & BOWLER, K. (1987) Temperature biology of animals. Chapman and Hall, London New York, 327 pp
- COSSINS, A.R. & PROSSER, C.L. (1978) Evolutionary adaptation of membranes to temperature. - Proc. Nat. Acad. Sci. USA 75, 2040-2043
- LEWIS, R.W. (1962) Temperature and pressure effects on the fatty acids of some marine ectotherms. - Comp. Biochem. Physiol. 6, 75-89





*Pleuragramma antarcticum*  
*Pagothenia bernacchii*  
*Bathyraco marri*  
*Neopagetopsis ionah*  
*Trematomus lepidorhinus*  
*Pagetopsis maculatus*  
*Chionodraco myersi*  
*Aethotaxis mitopteryx*

Abb.1 und 2: Hirngangliosid-Pattern (1-dimensionale Dünnschichtchromatographie; HPTLC) und Fangregionen unter Berücksichtigung der Wassertemperaturen verschiedener Notothenioidei aus dem Weddellmeer, gefangen während der Polarstern-Expedition EPOS 3.