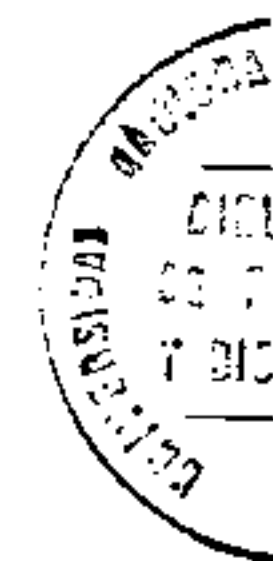


LÍPIDOS CEREBRALES EN COBAYOS DE LAS GRANDES ALTURAS

Alberto Fernández V., Freddy Salinas H. y Elizabeth Carranza A.*

Departamento Académico de Bioquímica. Facultad de Farmacia y Bioquímica (UNMSM)



RESUMEN

Se ha determinado el peso corporal, el peso del cerebro, y la grasa, el colesterol total, los fosfolípidos y esfingolípidos (esfingomielinas, cerebrósidos, sulfátidos, gangliósidos) cerebrales en 20 cobayos machos: 10 oriundos de nivel del mar (Lima, 150 m) y 10 de la altura (Cerro de Pasco 4380m). Se ha encontrado diferencias significativas en el peso corporal, con 13,8% menos en los cobayos provenientes de altura ($p < 0,05$). No se ha observado diferencias significativas en el peso cerebral ni en el contenido de grasa total del cerebro en ambos grupos. En los animales oriundos de altura el colesterol total muestra una reducción del 12,6% ($p < 0,001$) respecto de los del nivel del mar; los sulfátidos, del 14,1% ($p < 0,001$). Los plasmalógenos están incrementados en un 22,6% ($p < 0,005$) en la altura. No hemos encontrado diferencias significativas en los niveles de esfingomielina y de gangliósidos entre los dos grupos. Las diferencias significativas encontradas sugieren que la exposición crónica a la hipoxia en zonas de gran altitud produce alteraciones en la composición de los lípidos cerebrales, particularmente en la de los que conforman la vaina de mielina.

Palabras claves: Hipoxia, cerebro, lípidos, cobayos, grandes alturas

ABSTRACT

Body weight, brain weight, and total fat, cholesterol, phospholipids and sphingolipids (sphingomyelins, cerebroside, sulfatides, gangliosides) in brain were determined in 20 male guinea pigs, 10 native from sea-level zones (Lima, 150 m) and 10 from high altitude (Cerro de Pasco, 4380 m). The difference in body weight was significant, the high altitude guinea pig weight being reduced in 13.8% ($p < 0.05$). Neither brain weight nor total brain fat content showed significant differences. High altitude animals showed significant reductions: of cholesterol, 12.6% ($p < 0.01$); of total phospholipids, 4.6%; of cerebroside, 10.6% ($p < 0.001$); and of sulfatides, 14.1% ($p < 0.001$). The plasmalogens were increased in 22.6% ($p < 0.005$). There were no significant differences in sphingomyelin and ganglioside levels. The differences found suggest that chronic exposure to high altitude hypoxia might alter the composition of brain lipids, particularly those constituting the myelin sheath.

Key words: Hypoxia, brain, lipids, guinea pigs, high altitude.

INTRODUCCION

Los lípidos cerebrales juegan un papel fundamental en las membranas neuronales, y participan en el mantenimiento del estado excitable y en su estabilidad, y en la estructura de la vaina de mielina, indispensable para la correcta conducción de los impulsos nerviosos. Debido a esto, casi la mitad de la sustancia seca del cerebro esta constituida por lípidos de diversas estructuras. Si bien la clasificación de los componentes lipídicos del cerebro no es sencilla debido a la variabilidad de sus grupos funcionales, la mayor cantidad de estas sustancias se encuentran en la estructura de la mielina (1). El colesterol se encuentra en el cerebro en cantidad superior a la de cualquier otro constituyente, a excepción del agua, alcanzando el 4,5 % del peso fresco de la sustancia blanca cerebral. Dobbing y Sand (2) usaron la concentración de colesterol como índice de mielinización. En el cerebro la concentración de colesterol al nacer es de dos gramos, aumenta unas tres veces durante el primer año de la vida cuando la mielinización es relativamente rápida, sigue aumentando constantemente hasta los 4 años, luego el incremento es pequeño y gradual hasta alcanzar los valores del adulto. Los fosfolípidos son componentes principales de la mayor parte de las membranas de las células animales, las esfingomielinas constituyen una parte importante del cerebro, aproximadamente 1 % del peso fresco como componente de las vainas de mielina. Los galactoceramidos o galactósidos se encuentran en la sustancia blanca cerebral de muchas especies animales, los gangliósidos son los glicolípidos más complejos que existen en el cerebro y están íntimamente relacionados con la carga electronegativa de las membranas de las células neurales y están envueltos en el

mantenimiento del estado excitable de las mismas.

Se ha observado que la hipoxia de altura afecta el crecimiento y desarrollo a nivel orgánico, tisular y celular de manera específica. Así, mientras que el corazón, el hígado, el riñón y los pulmones son más grandes, el peso corporal, la hipófisis, el útero y los testículos son menores en animales nacidos en estas zonas, en comparación con controles del nivel del mar (3, 4).

En relación específica con la hipoxia de las grandes alturas, es poco lo que se conoce de su efecto sobre el crecimiento y desarrollo del sistema nervioso central humano. La mayor parte de la información existente sobre el efecto de la hipoxia sobre la actividad neuronal se obtiene a partir de modelos en animales de experimentación y dirigidas a estudiar el efecto de la hipoxia aguda. Timiras y Wooley (5) refirieron un retraso en la sustancia neurotransmisora, una menor actividad de las enzimas asociadas a la producción de energía o de metabolitos específicos y una menor mielinización en el cerebro de ratas expuestas a la altura. Un organismo expuesto al efecto del estrés hipóxico durante su crecimiento y desarrollo, puede tener efectos permanentes sobre el crecimiento somático y por ende, cerebral. Por lo que un conocimiento de tal efecto sobre la composición lipídica del cerebro de cobayos que fueron concebidos, nacidos y criados en condición hipóxica es de gran importancia para comprender los patrones de crecimiento y desarrollo cerebral en la altura.

El propósito del presente trabajo ha sido cuantificar los lípidos cerebrales en cobayos oriundos de las grandes alturas (Cerro de Pasco, 4 380 m) y en cobayos del nivel del mar.

(Lima, 150 m) con la finalidad de estimar las diferencias de estos parámetros entre ambas poblaciones. Hemos escogido como sujetos de experimentación los cobayos, ya que estos animales están perfectamente aclimatados en ambas altitudes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material Biológico

El presente estudio se llevó a cabo en cobayos (*Cavia cobayo*) adultos de 7-8 meses de edad, machos, oriundos de cada zona: 10 cobayos del nivel del mar (Lima, 150 m) y 10 de las grandes alturas (Cerro de Pasco, 4 380 m).

Los animales fueron pesados y sacrificados por decapitación, sus cerebros extraídos rápida y cuidadosamente, pesados, colocados en una bolsa de polietileno, sumergidos en una mezcla de hielo seco-metanol y almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para su posterior análisis, que se realizó dentro de las 24 horas de extraídos, en forma análoga para ambos grupos.

PROCEDIMIENTOS ANÁLITICOS

Extracción de lípidos

Todas las etapas, tanto la extracción como las determinaciones se hicieron bajo flujo de gas nitrógeno. Los lípidos del cerebro fueron extraídos siguiendo el método de Folch et al.(6) El tejido cerebral fue homogeneizado 1:10 (p/v) en una mezcla de cloroformo-metanol 2:1 frío ($4-6\text{ }^{\circ}\text{C}$) previamente deoxigenado. El residuo se separó por filtración y lavado dos veces con la mezcla de solventes. El homogeneizador se lavó tres veces con la misma mezcla de solventes y todos los extractos se juntaron en una fiola de 25 ml y se enrasó hasta el aforo. De esta solución extractiva, se tomaron 5 ml para la determinación de la grasa total, 0,1 ml para la determinación de colesterol total, 0,1 ml para

fosfolípidos totales, 0,2 ml para plasmalógenos y 6 ml para la separación de gangliósidos y el aislamiento de esfingolípidos (7). Para separar los gangliósidos, se hizo una partición con 1 ml de ClK 0,1 N y 0,5 ml agua. Se mezcló, centrifugó y se transfirió la capa acuosa superior a una fiola de 10 ml. La fase inferior se lavó por tres veces con 2 ml de cloroformo-metanol-KCl 0,1N (1:10:10) y cada fracción superior se transfirió a la fiola, la que se enrasó con metanol. Esta fase contiene los gangliósidos. La fase clorofórmica se transfirió a un tubo de prueba de 16 x 150 mm y se evaporó a sequedad. Los esfingolípidos se aislaron mediante una modificación del método de Morris (8). El extracto seco obtenido luego de la separación de los gangliósidos, se diluyó en 2 ml de cloroformo. Se agregaron 2 ml de NaOH metanólico 0,6 N y se dejó a temperatura ambiente por una hora. Se añadió 1,3 ml de HCl 1N y 0,5 ml de agua. Se mezcló y centrifugó. Se descartó la fase acuosa y la fase clorofórmica se evaporó a sequedad bajo corriente de nitrógeno. Para remover los lisoplasmalógenos, al residuo se le añade 3 ml de cloroformo-metanol (1:2) 0,8 ml de HgCl_2 25 mM en HCl 0,05 N y se incubó por 15' a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se añadió 1 ml de cloroformo y 1 ml de agua, se mezcló y centrifugó. La fase acuosa fue descartada y se evaporó a sequedad la fase clorofórmica. El extracto se disolvió en 2 ml de cloroformo. En esta solución se determinaron cerebrósidos, sulfátidos y esfingomielina

Métodos

El contenido de grasa total se determinó gravimétricamente; se determinó colesterol total por el método de Zlatkis y Boyle (9) fosfolípidos totales y esfingomielina, previa digestión con ácido perclórico, por análisis de fósforo según el método de Fiske y Subbarow.(10) Se usó el factor x 25 para convertir fósforo en fosfolípidos; los

plasmalógenos se determinaron siguiendo el método de Gottfried y Rapport (11) que se basa en la captación selectiva de yodo por el doble enlace de estos lípidos; los gangliósidos fueron estimados mediante la determinación del ácido N-acetil-neuramínico (NANA) presente según el método de Svennerholm modificado por Miettinen (7); los cerebrósidos se determinaron por diferencia entre galactocerámidos y los sulfátidos presentes en la muestra; los galactocerámidos se estimaron mediante la determinación del contenido de galactosa de acuerdo al método de Hess (12) y los sulfátidos se determinaron por el contenido de sulfato inorgánico (13)

Análisis Estadístico

Para cada parámetro los resultados se expresaron como media \pm desviación estándar. En la comparación de medias se aplicó la prueba "t" de Student. Se consideró significativa una diferencia si $p < 0,05$.

RESULTADOS

El Cuadro 1 resume los datos de la estadística descriptiva, como valores medios y dispersión de las variables observadas: peso corporal, peso del cerebro, contenido de grasa por gramo de tejido húmedo y grasa cerebral total de cobayos de Lima (150 m) y de cobayos oriundos de Cerro de Pasco (4380 m). Se indican también los resultados obtenidos en el análisis de diferencia entre medias. Se utilizó la prueba t de Student para muestras independientes. Se observa que existe diferencia significativa entre el peso

corporal de cobayos a nivel del mar y los de gran altura, estando disminuidos en estos últimos ($p < 0,05$) y que la variación del peso del cerebro de los cobayos adultos, materia de este estudio, no tiene significado estadístico. El contenido de grasa expresado ya sea por gramo de tejido húmedo o como contenido de grasa por órgano tampoco presenta diferencia significativa.

En el Cuadro 2 se muestran los valores encontrados para los parámetros lipídicos cerebrales: colesterol total, fosfolípidos totales, plasmalógenos y otros fosfolípidos, los cuales se obtuvieron por diferencia entre los niveles de fosfolípidos totales menos la suma de los niveles de plasmalógenos y de esfingomielina. Se puede apreciar variaciones significativas en los niveles de colesterol total ($p < 0,05$) siendo menor la concentración en cerebros de cobayos de la altura que en los del nivel del mar. Los valores medios de fosfolípidos totales no difieren significativamente; los plasmalógenos se encuentran aumentados en los cerebros de los animales de altura ($p < 0,005$), mientras que los otros fosfoglicéridos se encuentran disminuidos significativamente en dichos animales ($p < 0,001$).

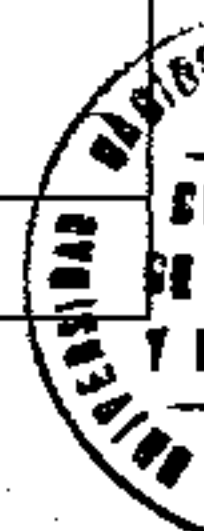
En el Cuadro 3 presentamos los valores medios de los esfingolípidos analizados, los cerebrósidos y sulfátidos se encuentran en menor concentración en los cerebros de animales de las grandes alturas ($p < 0,001$), mientras que los valores medios de esfingomielina y gangliósidos, no difieren significativamente entre ambos grupos.

Cuadro 1. Pesos, comparativos, absolutos y relativos de cobayos de Lima y de cobayos oriundos de Cerro de Pasco

	Peso Corporal	Peso Cerebro	Grasa Cerebral	
	Gramos		Mg/g de tejido húmedo	Mg/ peso órgano
Nivel del mar (150 m)				
Media	794,45	4,63	119,03	551,50
DE	134,22	0,49	10,68	77,83
ES	42,45	0,16	3,38	24,62
CV	16,90	10,68	8,97	14,11
Altura (4380 m)				
Media	685,15	4,40	117,50	517,47
DE	93,89	0,49	8,96	77,98
ES	29,69	0,16	2,84	24,66
CV	13,70	11,18	7,63	15,07
P	<0,05	ns	Ns	Ns

Cuadro 2. Composición lipídica cerebral en cobayos oriundos del nivel del mar y de gran altura

	Colesterol Total	Fosfolípidos Totales	Plasmalógenos	Otros Fosfoglicéridos*
	(mg/g de tejido húmedo)			
Nivel del mar (150 m)				
Media	18,81	54,88	7,80	39,84
DE	2,90	1,86	0,40	1,88
ES	0,66	0,59	0,13	0,60
CV	11,09	3,39	5,09	4,73
Altura (4 380 m)				
Media	16,44	52,34	9,56	35,63
DE	1,45	3,47	1,23	2,81
ES	0,46	1,10	0,40	0,89
CV	8,84	6,63	13,16	7,89
P	<0,01	Ns	<0,005	<0,001



Cuadro 3. Esfingolípidos cerebrales en coayos oriundos del nivel del mar y de gran altura.

	Esfingomiélinea	Gangliósidos	Cerebrósidos	Sulfátidos
(mg/g de tejido húmedo)				
Nivel del mar (150 m)				
Media	7,24	0,76	4,44	2,26
DE	0,24	0,08	0,18	0,14
ES	0,08	0,03	0,06	0,05
CV	3,33	10,13	4,04	6,30
Altura (4 380 m)				
Media	7,14	0,79	3,97	1,94
DE	1,42	0,05	0,26	0,21
ES	0,45	0,02	0,09	0,07
CV	19,91	6,04	6,57	10,74
P	Ns	Ns	<0,001	<0,001

DISCUSIÓN

Existen numerosas investigaciones que demuestran la influencia de diversos factores sobre la composición lipídica cerebral (14, 15, 16, 17). No obstante, en relación a la hipoxia crónica, no se han encontrado referencias sobre su efecto en la composición química cerebral.

En la presente investigación se ha observado que el peso corporal de los animales de la altura es menor en un 13,8% con respecto a los animales oriundos de zonas a nivel del mar ($p < 0,05$), resultado similar al obtenido por otros investigadores, quienes han demostrado que hay diferencias significativas entre animales que viven a nivel del mar y los que viven a grandes alturas (3, 4). Aunque se ha hallado que el peso cerebral de los animales de altura es, en promedio, ligeramente menor (en un 5%), tal diferencia no es significativa. Si bien la hipoxia crónica retarda la velocidad de crecimiento cerebral, el grado de desarrollo alcanzado finalmente es similar al del nivel del

mar (5). No se observan diferencias significativas al comparar la grasa total del cerebro de animales provenientes de nivel del mar con los de gran altura.

Nuestros hallazgos muestran que los cobayos nativos de las grandes alturas poseen un contenido de fosfolípidos cerebrales totales menor con respecto a los del nivel del mar en un 4,6%. Tal variación no es estadísticamente significativa (Cuadro 2), pero sí lo es la diferencia entre los fosfoglicéridos (excluyendo plasmalógenos). En la literatura revisada se ha observado que existe una disminución de fosfolípidos totales cerebrales por efecto de la hipoxia aguda. Así por ejemplo, en 1993, Ternovoi y Iaklovlev (18), estudiaron el efecto de la adaptación a gran altura (hipoxia aguda) sobre la composición fosfolipídica cerebral, hepática y pulmonar, en ratas, encontrando una disminución del contenido de fosfolípidos. Si bien nosotros no hemos determinado las fracciones individuales de fosfoglicéridos, los diferentes tipos de ellos varían en forma distinta en condiciones de

hipoxia, tal como lo han demostrado estos investigadores (19, 20). La disminución observada, parece formar parte de un mecanismo de adaptación del organismo frente a condiciones de hipoxia. La deficiencia tisular de oxígeno produce una disminución de la temperatura corporal (hipotermia), la cual a su vez inhibe un número de procesos metabólicos cerebrales relacionados con los fosfolípidos, según lo sugieren Chetverikov y Gasteva (21). Si bien nuestros resultados no muestran diferencia estadísticamente significativa en los niveles de fosfolípidos totales, no debemos descartar la posibilidad de que en la altura se produzcan mecanismos similares de adaptación que en la hipoxia aguda. La menor cantidad de fosfolípidos totales cerebrales obtenidos, así lo sugieren. Se requieren mayores estudios al respecto.

Un gran porcentaje de galactolípidos (cerebrósidos, sulfátidos), esfingomielinas, plasmalógenos y colesterol en el cerebro total, se encuentran formando parte de la mielina. Los cambios en las cantidades de estos componentes pueden interpretarse como alteraciones en la cantidad de mielina, aunque también puede deberse a alteraciones en las vainas amielínicas, como lo sugieren Geison y Waisman (22). La evaluación de nuestros datos experimentales revelan que, en general, los lípidos componentes de la vaina de mielina están disminuidos como consecuencia de la hipoxia crónica a grandes alturas (Cuadros 2 y 3). La disminución significativa observada en colesterol, cerebrósidos y sulfátidos podría deberse a lo sugerido por Kendler y Dawson (23) en el sentido de que la hipoxia limita la síntesis de estos compuestos y de sus precursores en los oligodendrocitos. La biosíntesis de plasmalógenos requiere un aporte menor de ATP en comparación con otros fosfolípidos, además de condiciones de reducción

para su formación. Esta característica, unida al hecho de que los plasmalógenos son más abundantes en las mitocondrias que los otros fosfolípidos (1), puede explicar el incremento notable observado en el cerebro de estos animales. Parece ser que la deficiencia de otros lípidos de mielina, promueve una mayor biosíntesis de plasmalógenos como un mecanismo compensatorio.

Estos resultados nos llevarían a sugerir una alteración de la mielina, y por ende, alguna manifestación fisiológica de esta anomalía, lo que concuerda con la investigación realizada por Gonzales, quien encontró que la velocidad de conducción nerviosa en individuos residentes en zonas de gran altura muestra variaciones con respecto al nivel del mar, estando significativamente disminuida (24).

Las diferencias no significativas observadas en los niveles de gangliósidos en cobayos nativos de las grandes alturas con respecto a los de nivel del mar, quizás se deban a lo sugerido por Avrova y Calcutt (25, 26), quienes manifiestan que se debe al efecto protector y estabilizador de los gangliósidos sobre la membrana de las células nerviosas contra las secuelas de la hipoxia.

CONCLUSIONES

1. No se observa diferencia significativa entre los pesos cerebrales de animales oriundos de las grandes alturas y los del nivel del mar, aunque la relación peso cerebro/peso corporal está incrementada en los primeros.
2. El cerebro de los animales de altura presenta en relación con el de los animales del nivel del mar, disminución de

fosfolípidos totales en un 4,6 %, (aunque no estadísticamente significativa), disminución de colesterol, en 12,6% ($p < 0,01$); de cerebrósidos, en 10,6% ($p < 0,001$); de sulfátidos, en 14,1% ($p < 0,001$).

3. Los plasmalógenos están incrementados en un 22,6% ($p < 0,005$) en los cerebros de animales de la altura en relación con los nivel del mar.
4. No se encontró diferencias en los niveles de esfingomielina ni de gangliósidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Murray R., Graner D., Rodwell V. Y Mayes A. 1993.** Bioquímica de Harper. Pag: 177-190, México D.F. Edit. El Manual Moderno.
2. **Dobbing J., Sand J. 1973** The quantitative grow and development of the human brain. *Archives Disease Child*, Vol 48 N° 5: 757-767.
3. **Garayar, D y Guerra – García, R. 1992.** Auxología, endocrinología y morfometría del cobayo (*cavia aperea*) a nivel del mar y en altura. *Acta Andina* 1: 101-108.
4. **Mamani F., De la Cruz W. 1999.** Contenido de ADN, ARN y Proteínas en diversos órganos de cobayos oriundos de la altura. *Ciencia e Investigación* Vol 2, N° 2, pag: 103-110.
5. **Timiras P. Woolley D. 1996.** Functional and morphologic development of brain and other organs of rats at high altitude. *Federation Proceedings* 25:1312-20.
6. **Folch J., Ascoli I., Lees M. Meatb J. 1951** *LeBaron N.* Preparation of lipid extracts from brain tissue. *Journal Biological Chemical* 191(2): 833-841.
7. **Lowestein J.M. 1969.** Methods in enzymology. Vol. 14, pag 482-532 New York, *Academic Press*.
8. **Morris K. 1972.** Laboratory Techniques in biochemistry and molecular biology. Vol 3 pag 430-456, Londres, North Holland Publishing Company.
9. **Zlatkis A., Zak B., Boyle J. 1953.** A new method for the direct determination of serum cholesterol. *Journal Laboratory Clinical Medicine*, 41:486-492.
10. **Fiske,-Subbarow, Y. 1925.** The colorimetric determination of phosphorus. *Journal Biological Chemical* 66: 375-400.
11. **Gottfried E., Rapport M. 1962** A simple and accurate micromethod for plasmalogens and other enol ethers. *Journal Biological Chemical* 237: 329-332.
12. **Hess H. Lewin L. 1965.** Microassay of biochemical structural components in nervous tissues, *Journal Neurochemical* Vol N° 12: 205-208.
13. **Spencer B. 1960.** The Ultramicro Determination of Inorganic Sulphate. *Biochem. J.* 75: 435-438.
14. **Costa W., Engelhardt E., Engelhardt M. 1981.** Identificacao da epoca de mielinizacao de alguns feixes da medula cervical do *Gallus gallus domesticus*. *Rev. bras. biol.* 41(4): 833-9.
15. **Okazaki M., Sakamoto H., Obtsuki A., Oguchi K. 1990.** Changes in brain lipid composition in thiamine deficient rats. *Japanese Journal Pharmacology.* Vol N° 54(2): 171-8.
16. **Sasi, M.M; Haider, S.S.K; el Fakhri, M.; Ghwarsha, KM. 1993.** Microchromatographic analysis of lipids, protein, and occurrence of lipid peroxidation in various brain areas of vanadium exposed rats: a posible mechanism of vanadium neurotoxicity. *Neurotoxicology* 14 (1): 57-63.

17. **Tamai Y., Kojima H., Saito S., Uchida K., Kitajima R. 1993.** Metamorphic changes in glycolipids and myelin proteins and 2'; 3'-cyclic nucleotide 3'-phosphohydrolase in bullfrog and axolotl brains. *Journal Neurochemical* 60 (5): 1854-63.
18. **Ternovoi V., Iakovlev M. 1993.** Changes in the phospholipid and cholesterol content of rat tissues during adaptation to high altitude at different environmental temperatures. *Zh. Evol. Biokhim. Fiziol.* 29(1): 22-6.
19. **Mozzi R. Andreoli V. 1993.** Phosphatidylserine synthesis in the rat cerebral cortex: effects of hypoxia and hypocapnia. *Molecular Cell Biochemical* Vol N° 126. 101- 105.
20. **Dvorkin, V. 1966.** Turnover of individual phospholipid fractions in the rat brain during hypoxia. *Nature* 212: 1239-40.
21. **Chetverikov D., Gasteva S. 1966.** Possible mechanisms of depression of cerebral phospholipid metabolism during deficiency of body oxygen. *Nature* 212: 1236-8.
22. **Geison R., Waisman H. 1970.** Effects of Nutritional status on rat brain maturation as measured by lipid composition. *Journal Nutrition* 100:315-324.
23. **K Kendler A., Dawson G. 1993.** The role of glycosphingolipids in hypoxic cell injury. *Advance Lipid Research.* 25: 289-301.
24. **González Portillo, M. 1973.** Estudio de la velocidad de conducción nerviosa a nivel del mar y en la altura en peruanos. Tesis Doctoral UPCH.
25. **Avrova F., Nalivaeva N., Tiurin V. 1993.** Ability of gangliosides to improve the functional state of the body and normalize the biochemical structure of cell membranes in hipoxia. *Fiziol. Cheloveka* 19 (6): 109-20.
26. **Calcutt N., Carrington L. 1992.** Ettliger C., Tomlinson D. The effect of mixed bovine brain ganqliosides on hypoxic conduction block in control and streptozotocin-diabetic rats. *J. Neurol. Sci.* 109 (1): 96-101.

