ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР. БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ

XIX, № 12, 1966

М. И. ТАГМИЗЯН

СВОБОДНЫЕ АМИНОКИСЛОТЫ РАКОВЫХ ОПУХОЛЕЙ ЖЕЛУДКА ЧЕЛОВЕКА

По предположению многих исследователей между содержанием свободных аминокислот и биосинтезом белков в тканях должна существовать зависимость, однако это предположение до сих пор не нашло своего экспериментального подтверждения. Тем не менее определение свободных аминокислот в тканях может дать много ценных данных об обмене белков. В настоящее время можно не сомневаться, что злокачественный рост является результатом нарушения обмена белков.

Принимая во внимание, что изучение характера изменения свободных аминокислот имеет важное значение в выяснении биологических особенностей тканей, мы в настоящей работе остановились на исследовании свободных аминокислот раковых опухолей желудка человека. Эти данные мы сравнивали с результатами, полученными из слизистой оболочки не пораженных опухолью отделов желудка и тканей дна язвы.

По мнению Барбола [1], увеличение количества гистамина в глубоких слоях стенки желудка является характерным для язвы желудка. Слизистая оболочка желудка больных раком в свободном виде не содержит гистамина и в противоположность слизистой оболочке здорового желудка не способна образовывать его [2].

Количественные определения аргинина, лизина и тирозина проводились Фючсом [3], аспарагина, глутамина, аспарагиновой и глутаминовой кислот—Мамаевой [12]. По данным Котаке и Охсюка [4], в раковых опухолях желудка содержится больше лейцина, фенилаланина, валина, метионина, тирозина, аланина, пролина, глицина, аспарагиновой и глутаминовой кислот, треонина, серина, аргинина, лизина, чем в слизистой оболочке. Рольф и Ева [5] указывают на уменьшение глутаминовой кислоты в раковой опухоли желудка.

Таким образом, данные о количественном содержании свободных аминокислот в раковых опухолях желудка скудные и противоречивые. Наша работа посвящена выяснению этого вопроса. В опытах мы определяли также количество остаточного азота в вышеуказанных тканях.

Методика. Исследуемые ткани — слизистая оболочка, дно язвы и рак желудка — брали сразу же после их хирургического удаления, чтобы избежать процессов аутолиза. Кусочки тканей тщательно промывали проточной холодной водой, слизистую оболочку отделяли от нижележащего мышечного слоя, слизь удаляли механическим путем. Ткань дна язвы и рака желудка отделяли от слизистой оболочки и мышечного слоя (когда опухоль не прорастала мышечный слой) механическим пу-

тем. Для исследования не брали участки тканей, пропитанных кровью. Ткани измельчали ножницами до мелкой кашицы, затем гомогенизировали с равным объемом физиологического раствора NaCl в стеклянном гомогенизаторе. Все эти манипуляции проводили в холодной комнате при температуре ниже 0°С.

Полученный гомогенат замораживали с жидким азотом и растирали в фарфоровых ступках до получения порошкообразной массы. Препараты оставляли в холодильнике на ночь при температуре —8°С. На следующий день они оттаивали при комнатной температуре и центрифугировали 15 мин. при 15000 об/мин. Центрифугат освобождали от липидов в делительной воронке эфиром. В экстрактах определяли остаточный азот по методу Кьельдаля.

Определение свободных аминокислот в белковом экстракте проводили после осаждения белков равным объемом 96° спирта. Состав аминокислот устанавливался методом одномерной восходящей хроматографии на бумаге Ватман № 4. В качестве растворителя применяли смесь н-бутилового спирта, уксусной кислоты и воды (4 : 1 : 1). Хорошее разделение аминокислот получилось после трехкратного пропускания растворителя. Проявление пятен аминокислот проводили 0,5% раствором нингидрина в ацетоне, содержащем 5% уксусной кислоты. Чтобы достигнуть лучшего развития окраски пятен, после быстрого высушивания на воздухе, хроматограммы переносили в сушильный шкаф, где оставляли на 10 мин. при температуре 65°С.

Для количественного определения аминокислот их окрашенные пятна вырезали, измельчали ножницами, помещали в отдельные пробирки, заливали 5 мл раствора метанола, содержащего 0,04% азотнокислой меди (последняя необходима для стабилизации окраски). Элюция заканчивалась в течение часа. Элюаты фотометрировали в фотоэлектроколориметре (ФЭК-М) с зеленым фильтром (530 мμ). Количество отдельных аминокислот вычисляли по графику, построенному для каждой аминокислоты на основании ее реакции с нингидрином.

Результаты исследования. Нами было исследовано 12 раковых опухолей и 5 язв желудка. Во всех случаях для контроля брались также соседние участки слизистой оболочки, не пораженные патологическим процессом. Результаты исследований показывают, что качественный состав свободных аминокислот раковых опухолей, дна язвы и слизистой оболочки одинаков. Во всех случаях мы обнаруживали присутствие 18 аминокислот — цистеин, цистин, лизин, гистидин, аргинин, серин, глицин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, треонин, аланин, пролин, тирозин, триптофан, метионин, валин, фенилаланин, лейцин. Из результатов количественного определения выяснилось, что в опухолях содержание всех вышеуказанных аминокислот значительно выше, чем в тканях дна язвы и слизистой оболочки (табл. 1).

Количественное определение цистеина и цистина нами не проводилось. Как видно из табл. 1, имеется также увеличение содержания не-

Таблица 1

Свободные аминокислоты рака, дна язвы и слизистой оболочки желудка (средние данные в γ на 1 мл безбелкового фильтрата)

Название аминокислот	Рак желудка		Язва желудка		Соотношение количества аминокислот опухоли к слизистой оболочке желудка	Соотношение количества аминокислот дна язвы к слизистой оболочке желудка
	опухоль	слизистая	дно язвы	слизистая		
Лизин	212,6±8,2	122,0±4,7	129,0±5,3	114,2±4,6	1,66	1,13
Гистидин	280,5±16,0	150,0±6,3	203,1±9,1	136,0±5,2	1,87	1,42
Аргинин	353,7±13,8	201,1±9,3	193,0±7,4	154,4±7,1	1,73	1,25
Аспарагиновая кислота	534,4±17,9	234,3±13,2	317,0±14,4	251,6±9,8	2,28	1,26
Серин	82,4±4,3	33,2±2,0	43,6±2,8	31,8±2,1	2,48	1,37
Глицин	59,1±2,9	33,0±1,7	31,1±1,6	21,0±1,3	1,79	1,48
Глутаминовая кислота	361,4±15,2	171,3±8,2	234,7±9,1	170,0±7,7	2,61	1,38
Треонин	70,9±3,4	28,7±1,6	27,8±1,9	19,7±1,3	2,47	1,4
Аланин	143,3±6,1	71,3±4,2	71,8±3,8	60,8±2,7	2,01	1,18
Тирозин	53,9±2,9	22,0±1,7	52,6±2,8	44,2±3,0	2,45	1,19
Триптофан	32,6±2,6	16,0±1,3	22,1±1,1	21,4±1,4	2,04	1,03
Метионин	128,1±12,1	28,1±2,6	46,3±4,3	37,6±3,4	4,56	1,23
Валин	64,3±4,3	28,2±2,9	46,2±3,2	41,2±3,3	2,28	1,12
Фенилаланин	32,5±1,6	16,1±0,9	29,0±1,4	14,8±0,7	2,69	1,89
Лейцин	144,3±8,1	67,1±4,9	92,0±7,6	72,4±5,3	2,15	1,27
Цистеин	следы	следы	следы	следы		
Цистин						
Пролин	68,3±6,3	30,1±2,9	27,3±2,6	28,4±2,3	2,27	0,96

которых свободных аминокислот и в тканях дна язвы—фенилаланина, глицина, серина, гистидина, треонина и глутаминовой кислоты.

Для удобства сравнения мы приводим также коэффициенты, показывающие соотношение количества аминокислот опухоли и дна язвы к количеству аминокислот слизистой оболочки желудка. Эти данные показывают, что большинство свободных аминокислот в раковых опухолях желудка содержатся в 2 и более раза больше, чем в слизистой оболочке, а метионин—в 4,5 раза. В тканях дна язвы имеется лишь заметное повышение содержания только некоторых аминокислот, а содержание остальных аминокислот остается без особых изменений.

Результаты определения остаточного азота в тканях раковых опухолей, дна язвы и слизистой оболочки желудка приведены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, нормальные и опухолевые ткани по содержанию остаточного азота отличаются друг от друга. Так, в тканях железисто солидного рака количество остаточного азота составляет в среднем 140,62 мг%, в тканях слизистого рака 102,46, в тканях дна язвы 68,20, тогда как в слизистой оболочке этих желудков оно составляет 81,90, 63,84, 39,20 мг% соответственно и 38,60 мг% в слизистой оболочке полипозных желудков.

Таблица 2

Содержание остаточного азота в тканях рака, дна язвы и слизистой оболочки желудка

Материал	Ткань	Остаточный азот (в мг%)
Железисто-солидный рак	опухоль	140,62
	слизистая	81,90
Слизистый рак	опухоль	102,46
	слизистая	63,84
Язва желудка	дна язвы	68,20
	слизистая	39,20
Полип желудка	полип	—
	слизистая	38,60

Обсуждение результатов. Результаты наших исследований показывают, что состав свободных аминокислот раковой опухоли желудка человека качественно не отличается от состава аминокислот ткани дна язвы и слизистой оболочки желудка. Во всех этих тканях содержится большое количество аспарагиновой кислоты, аргинина, глутаминовой кислоты, гистидина и лизина.

По сравнению со слизистой оболочкой в раковой опухоли желудка имеется резкое повышение содержания обнаруживаемых всех 18 аминокислот (в среднем 2 раза), тогда как в тканях дна язвы желудка наблюдается лишь заметное увеличение количества фенилаланина, серина, глицина, гистидина, треонина и глутаминовой кислоты, содержание же остальных аминокислот заметным образом не меняется.

Полученные нами данные согласуются с данными относительно свободных аминокислот желудочного сока больных, страдающих раком и язвенной болезнью желудка [6—10]. В этих работах также отмечается более высокая концентрация свободных аминокислот у раковых больных, чем у больных язвой желудка и у здоровых людей.

Полученное нами резкое повышение количества остаточного азота в раковых опухолях и умеренное увеличение в тканях дна язвы согласуется с теми сдвигами, которые имеются в содержании свободных аминокислот и совпадают с данными Мартина [11] относительно высокого содержания остаточного азота в желудочном соке больных раком желудка (в 3,5 раза больше, чем в желудочном соке здоровых людей).

Выводы

1. В экстрактах слизистого и железисто-солидного рака желудка обнаруживается весьма высокое содержание остаточного азота, особенно в экстрактах железисто-солидного рака.

2. Качественный аминокислотный состав свободных аминокислот раковых опухолей, дна язвы и слизистой желудка не отличаются друг от друга.

3. В раковых опухолях желудка наблюдается резкое повышение содержания всех свободных аминокислот, тогда как в тканях дна язвы имеется умеренное увеличение лишь некоторых аминокислот.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 16.VI 1965 г.

Մ. Ն. ԹԱՇՄԻՋՅԱՆ

ՄԱՐԴՈՒ ՍՏԱՄՈՔՍԻ ՔԱՂՑԿԵՂԱՅԻՆ ՈՒՌՈՒՑՔՆԵՐԻ ԱԶԱՏ ԱՄԻՆԱԹԹՈՒՆՆԵՐԸ

Ամփոփում

Ներկա աշխատության մեջ ուսումնասիրված է մարդու ստամոքսի չարորակ ուռուցքների ազատ ամինաթթուների որակական ու քանակական կազմը։ Համեմատության համար ուսումնասիրված են նաև ստամոքսի խոցի հատակի հյուսվածքը և պաթոլոգիական պրոցեսի մեջ չընդգրկված ստամոքսի լորձաթաղանթը։

Վերոհիշյալ բոլոր հյուսվածքներում—թղթի վրա վերելակ խրոմատոգրաֆիական եղանակի օգնությամբ—հայտնաբերված են 18 ազատ ամինաթթուներ՝ ցիստեին, ցիստին, լիզին, հիստիդին, արգինին, սերին, գլիցին, ասպարագինաթթու, գլուտամինաթթու, տրեոնին, ալանին, պրոլին, տիրոզին, տրիպտոֆան, վալին, մեթիոնին, ֆենիլալանին և լեյցին։

Հետազոտման արդյունքները ցույց տվեցին, որ քաղցկեղային հյուսվածքում բոլոր ամինաթթուների քանակը խիստ ավելանում է (2 և ավելի անգամ) ստամոքսի լորձաթաղանթի հետ համեմատած, այնինչ խոցի հատակի հյուսվածքում նկատելի չափով ավելանում է միայն ֆենիլալանինի, սերինի, գլիցինի, հիստիդինի, տրեոնինի և գլյուտամինաթթվի քանակը, իսկ մնացած ամինաթթուների քանակը համարյա փոփոխություն չի ենթարկվում։

Հայտնաբերված է նաև մնացորդային ազոտի քանակի խիստ ավելացում (3—4 անգամ) քաղցկեղային հյուսվածքում, համեմատած ստամոքսի լորձաթաղանթի հետ։

Ստացված արդյունքները համընկնում են գրականության մեջ եղած տվյալներին ստամոքսի քաղցկեղով հիվանդ մարդկանց ստամոքսահյութում և քաղցկեղային հյուսվածքում բուն ամինաթթուների և մնացորդային ազոտի պարունակության վերաբերյալ։

ЛИТЕРАТУРА

1. Barbola J., Biklch G., Faredin J. Acta med. acad. sci. Hung, 3, 163, 1965
2. Werle E., Zeisberger H. Klin. Wochschr., 30, 45, 1952.
3. Fuchs Heinrich, Zeitschrift fur Biologie, 99, 484, 1939.
4. Kotake M., Ohsuka A. Proc. of Japan Acad., 29, 59, 1953.
5. Rolf F., Eva G. Z. Ges. Innere Med., 10, 1046, 1955.
6. Warren S., Gilligan R. J. Nat. Cancer Inst., 12, 3, 677, 1951.
7. Cagianut Z., Nager C. Schweiz. med. Wschr., 80, 819, 1948.
8. Inone S. Kumamoto Igakkai Zasshi 2, 30, 12, 1956.
9. Shimizu F. Tohoku J. Exp. Med., 65, 229, 1957.
10. Oh-Uti K., Awataguchi J. Tohoku J. Exp. Med., 67, 123, 1957.
11. Martin M. J. Amer. Med. Assoc., 100, 1475, 1933.
12. Мамаева В. В. Биохимия, 20, 450, 1955.