



ИЗУЧЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ И СОСТАВА ЦЕРЕБРОЗИДОВ И СУЛЬФОЦЕРЕБРОЗИДОВ В ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

ЛЕВИТИНА М. В., ВАСИЛЬЕВ А. А.

Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова
АН СССР, Ленинград

Определено содержание и состав cerebrozидов и сульфocerebrozидов в опухолях головного мозга человека пяти типов (глиобластом, астроцитом, медуллобластом, невринном и менингиом), а также в белом и сером веществе головного мозга человека в норме. В исследованных опухолях отмечается исключительно низкое содержание обоих гликолипидов по сравнению с белым и серым веществом головного мозга. Существенно отличается также состав cerebrozидов в этих опухолях. Так, в них обнаружено высокое содержание глюкоцереброзидов, а также повышение доли насыщенных нормальных жирных кислот в cerebrozидах и сульфocerebrozидах глиобластом по сравнению с нормой. Полученные результаты обсуждаются в связи с предполагаемой ролью нарушений обмена гликолипидов в злокачественной трансформации тканей и с перспективами развития данного направления исследований.

Cerebrozиды (Ц) и сульфocerebrozиды (СЦ) являются важными компонентами мембран клеток нервной ткани. Они способны модулировать активность ферментов, процессы рецепции, обладают антигенной активностью [1—8].

Изучение Ц и СЦ в опухолях головного мозга млекопитающих и человека началось с 70-х годов [8—10]. Однако имеющиеся данные о содержании и структуре этих гликолипидов немногочисленны, неполны и противоречивы. Детальное биохимическое изучение этих гликолипидов в опухолях головного мозга представляет не только теоретический интерес, но имеет большое практическое значение для решения вопросов, связанных с диагностикой и лечением рака.

В настоящей работе сообщаются данные о содержании Ц и их сульфoэфиров и об их составе в пяти типах опухолей головного мозга человека. Выявленные количественные и качественные изменения этих гликолипидов в трансформированных клетках по сравнению с нормальными клетками головного мозга обсуждаются в связи с возможной ролью этих гликолипидов в определении свойств трансформированных клеток.

Материалом для исследований служили опухоли головного мозга человека, полученные во время нейрохирургических операций в Ленинградском нейрохирургическом институте им. А. Л. Поленова. Был изучен 21 образец пяти типов опухолей—глиобластомы, астроцитомы, медуллобластомы, невриномы и менингиомы [11]. Опухоли очищали от кровеносных сосудов, промывали 0,9%-ным NaCl и приготавливали гомогенную кашицу. Из нее брали пробы для определения сухой массы, белка и экстракции суммарных липидов. Из суммарных липидов выделяли Ц и СЦ с помощью одномерной ТСХ на силикагеле КСК в нейтральной системе растворителей хлороформ-метанол-вода (70:30:5). Пятна проявляли в парах йода. Количество Ц определяли по реаксозе реакцией с орцином-концентрированная H_2SO_4 при длине волны 505 и 420 нм; а количество СЦ определяли реакцией с азуром-А по методикам, описанным нами ранее [12]. Суммарные Ц разделяли на галакто- и глюкоцереброиды с помощью одномерной ТСХ на силикагеле с боратом Na в системе растворителей хлороформ-метанол-вода-концентрированный аммиак (280:70:6:1) по методу Кеп [13]. Жирные кислоты анализировали в виде метиловых эфиров на ГЖХ, используя неполярную фазу SE-30 и программирование температуры от 170 до 235°, 2°/мин. Метиловые эфиры гидроксикислот анализировали в виде сильных производных.

Результаты и обсуждение

Содержание Ц и СЦ в разных опухолях представлено в табл. 1, для сравнения приведены данные по содержанию этих гликолипидов в белом и сером веществе головного мозга человека. Проводилось также сравнение полученных результатов с данными других авторов по содержанию и составу этих липидов в нейронах и астроцитах мозга крысы [14], олигодендронитах мозга быка [15] и аксолемах мозга крысы [16]. Изученные опухоли отличаются по локализации, гистогенезу и степени злокачественности [11]. Глиобластома, астроцитомы и медуллобластома относятся к группе внутримозговых опухолей нейроэпителиального происхождения. Астроцитомы являются разновидностью глиомы и считаются зрелой полужлокачественной опухолью. Из них наиболее злокачественными являются глиобластома и медуллобластома, они характеризуются незрелостью, недифференцированностью клеток. Невринома и менингиома относятся к внемозговым опухолям: первая имеет нейроэпителиальное происхождение и возникает из клеток неврилеммы (шванновской оболочки) нервных стволов; вторая имеет мезодермальное происхождение и является опухолью твердой оболочки мозга. Обе опухоли в большинстве случаев являются доброкачественными или полужлокачественными.

Содержание Ц и СЦ неодинаково в различных опухолях, поэтому рассмотрим каждую из них отдельно. Среди внутримозговых опухолей сравнительно высокое содержание обоих гликолипидов как в мг/г сухой массы, так и в % от общего содержания липидов найдено в глиобластоме: Ц составляют 3,16, а СЦ—4,85 мг/г сухой массы; существенно более низкое в астроцитоме—около 1,24 и 1,27 мг/г сухой массы соответственно; в медуллобластоме: Ц—1,36 и СЦ—1,34 мг/г сухой массы (табл. 1).

Таблица 1

Содержание цереброзидов и сульфocereброзидов в опухолях головного мозга человека

Вид опухоли или ткани мозга	Единицы измерения	Цереброзиды					Сульфocereброзиды	Ц:СЦ
		Сумма	с нормальными кислотами	с гидроксикислотами	Галакто-цереброзиды	Глюкоцереброзиды		
Глиобластома (n=3)*	мг/г сухой массы	3.16±0.44	1.44±0.44	1.72±0.06	0.51	2.65	4.85±1.60	1:1.5
	% от общих липидов	0.63±0.09	0.29±0.09	0.34±0.02	0.10	0.53	0.97±0.32	
Астроцитомы (n=5)	мг/г сухой массы	1.24±0.36	0.71±0.20	0.53±0.15	0.28±0.12	0.96±0.24	1.27	1:1
	% от общих липидов	0.26±0.08	0.15±0.06	0.11±0.03	0.06±0.03	0.20±0.05	0.25	
Медуллобластома (n=3)	мг/г сухой массы	1.36±0.17	0.94	0.42	0.27	1.09	1.34	1:1
	% от общих липидов	0.27±0.03	0.19	0.06	0.05	0.21	0.27	
Невринома (n=5)	мг/г сухой массы	1.46±0.37	0.88±0.22	0.58±0.15	0.35±0.09	1.11±0.28	0.83	1.8:1
	% от общих липидов	0.33±0.08	0.20±0.05	0.13±0.03	0.08±0.02	0.25±0.07	0.16	
Менингиома (n=5)	мг/г сухой массы	1.17±0.31	0.58±0.32	0.58±0.11	0.58	0.58	0.58±0.16	2:1
	% от общих липидов	0.24±0.06	0.12±0.06	0.12±0.01	0.12	0.12	0.12±0.03	
Серое вещество	мг/г сухой массы	17.50	7.28	10.19	17.10	0.40	5.00	3.5:1
	% от общих липидов	3.50	1.46	2.04	3.40	0.10	1.00	
Белое вещество	мг/г сухой массы	145.00	38.26	106.85	141.70	3.35	45.00	3:1
	% от общих липидов	35.60	10.16	28.45	37.70	0.90	11.00	

Примечание. * Достоверность данных, подвергнутых статистической обработке, определена на уровне значимости $p=0,05$; n—количество опухолей каждого типа.

Изучен состав Ц и СЦ этих опухолей. В глиобластоме содержится немного больше фракции Ц с гидроксикислотами, а в астроцитоме, напротив, несколько больше фракции Ц с нормальными кислотами. Для Ц медуллобластомы, одной из наиболее злокачественных опухолей среди всех исследованных, отмечено еще более значительное преобладание фракции с нормальными кислотами (относительное содержание этих Ц более чем в 2 раза выше, чем фракции Ц с гидроксикислотами).

Ц этих опухолей были разделены также по углеводному компоненту. В результате показано, что во всех 3-х типах внутримозговых опухолей, содержащих глюкозу, преобладает фракция Ц. Глюкоцереброзидов обнаружено в 3,5—5 раз больше, чем галактоцереброзидов, причем в глиобластоме—наиболее злокачественной и распространенной опухоли головного мозга—отмечена наиболее выраженное преобладание глюкоцереброзидов. По этому показателю Ц опухолей мозга резко отличаются от Ц серого и белого вещества мозга человека в норме, в которых значительно преобладает галактоза.

По жирнокислотному компоненту были разделены только гликоэффинголипиды глиобластомы. Из Ц и СЦ глиобластомы выделены насыщенные и моноеновые жирные кислоты от 16 до 27 С атомов (табл. 2). В целом Ц и СЦ глиобластомы содержат в основном насыщенные

Таблица 2

Состав жирных кислот цереброзидов и сульфocereброзидов глиобластом человека (в % от суммы нормальных кислот и от суммы гидроксикислот)

Жирные кислоты	Ц е р е б р о з и д ы		Сульфocereброзиды	
	нормальные кислоты	гидроксикислоты	нормальные кислоты	гидроксикислоты
16:0	24.5	1.4	24.0	8.0
17:0	1.7	сл.	1.8	сл.
18:0	12.8	2.0	12.1	2.0
18:1	0.8	сл.	1.8	сл.
20:0	2.5	1.4	2.1	6.0
20:1	1.2	1.8	1.8	сл.
21:0	0.8	сл.	сл.	4.0
22:0	4.9	9.6	4.6	12.0
22:1	сл.	сл.	сл.	4.0
23:0	5.4	16.9	4.6	8.0
23:1	сл.	сл.	сл.	2.0
24:0	15.6	45.3	13.6	8.0
24:1	6.6	4.8	7.1	16.0
25:0	6.6	10.1	6.1	6.0
25:1	1.6	1.7	1.8	2.0
26:0	1.6	4.8	2.5	4.0
26:1	11.1	2.0	10.0	18.0
27:0	1.5	сл.	2.9	сл.
27:1	1.8	сл.	3.2	сл.
насыщенные	76.9	91.5	74.3	58.0
длиннонепочечные*	46.4	68.7	47.2	54.0

Примечание. * Жирные кислоты с C₂₄ по C₂₇. сл.—следовые количества (менее 0,5%).

нормальные жирные кислоты (более 70% всех нормальных кислот). Что касается гидроксикислот, то в Ц они в основном насыщенные (92% от суммы гидроксикислот), а в СЦ—значительно менее насыщенные

ные (58% от суммы гидроксикислот). Обращает на себя внимание довольно низкое относительное содержание нервоновой кислоты (24:1) в обоих липидах опухоли (7%).

Ц и их сульфозифиры обнаружены и в исследованных висцеральных опухолях (невриноме и менингиоме). В невриноме содержание Ц и СЦ немного больше, чем в менингиоме (табл. 1). В отличие от внутримозговых опухолей, в невриноме и менингиоме отмечено существенное преобладание Ц над СЦ—в 2 раза.

Ц невринами и менингиомами содержат галактозу и глюкозу, причем в первой глюкозы в 3 раза больше, чем галактозы, а во второй оба сахара содержатся в одинаковых количествах. В менингиоме содержание фракции Ц с нормальными жирными кислотами и фракции Ц с гидроксикислотами примерно одинаково, тогда как среди Ц невринами примерно в 1,5 раза больше Ц с нормальными кислотами.

Исследованные опухоли существенно отличаются по содержанию и составу Ц и СЦ от белого и серого вещества головного мозга человека в норме (табл. 1, 2). В общих чертах эти различия сводятся к следующему:

а) содержание обоих гликолипидов намного ниже в опухолях головного мозга, чем в сером веществе мозга. Так, например, в глиобластоме в 5 раз меньше Ц по сравнению с серым веществом и более чем в 45 раз по сравнению с белым веществом мозга. Содержание СЦ в этой опухоли по сравнению с белым веществом в 10 раз меньше. В астроцитоме концентрация обоих гликолипидов ниже почти в 14 и 3,5 раза соответственно по сравнению с серым веществом (табл. 1).

б) для опухолей головного мозга характерно иное, чем в нормальной ткани мозга соотношение между Ц и их сульфозифирами. Как известно, в головном мозгу в норме содержание Ц в несколько раз превышает содержание СЦ [9], тогда как в глиобластоме содержание СЦ более высокое, чем их предшественников, а в медуллобластоме и астроцитоме содержание обоих гликолипидов близкое. Аналогично повышенная доля СЦ по отношению к Ц обнаружена в линии клеток глиомы мыши, индуцированных химическими веществами [9]. Интересно отметить, что, несмотря на преобладание Ц над СЦ в менингиомах и невринах, соотношение Ц/СЦ в этих висцеральных опухолях существенно меньше, чем в норме (табл. 1).

в) особенностью исследованных опухолей кроме менингиом является более высокое содержание глюкоцереброзидов по сравнению с галактоцереброзидами (в менингиоме уровень этих Ц одинаков, табл. 1). В норме в головном мозгу взрослых млекопитающих и человека Ц содержат в основном галактозу и очень мало глюкозы [17]. Как в сером, так и в белом веществе преобладают галактоцереброзиды над глюкоцереброзидами более чем в несколько сот раз [14]. Полученные нами результаты согласуются с теми немногочисленными данными, которые имеются в литературе. Так, есть сообщения о снижении концентрации Ц и СЦ в глиоме G-25 и G-261 мыши [18] и в линии клеток глиомы D-54 Mg человека [19]. Показано, что в главоме мозга мыши увеличена концентрация гликоцереброзидов по сравнению с нормальным мозгом [18].

г) состав жирных кислот Ц и СЦ глиобластомы заметно отличается от нормы. Так, для глиобластомы характерно относительно низкое содержание нервоновой кислоты в обоих липидах, в результате чего отношение 24:0/24:1 равно 2 по сравнению с 0,4 в нормальном мозгу [20]. В литературе мы не нашли данных о составе жир-

ных кислот Ц и СЦ опухолей головного мозга человека. Только в одной работе говорится о возможном изменении состава их жирных кислот в линии клеток глиомы D-54 Mg человека на основании косвенных показателей—подвижности гликолипидов на ТСХ [19].

Данные по Ц и СЦ немозговых опухолей человека (невриномы и менингиомы) в литературе практически отсутствуют. Эти опухоли, по-видимому, имеют некоторые особенности гликолипидного состава. Известно, что невринома образуется из шванновской клетки. Представляло бы интерес сравнить содержание и состав гликолипидов невриномы с неврилеммой. Однако таких данных в литературе мы не нашли, но есть сведения о гликолипидах аксолеммы, выделенной из мозга крысы [16]. По сравнению с приводимыми в этой работе данными в невриноме содержание Ц и СЦ значительно более низкое. О более низком содержании Ц в невриноме по сравнению с нормой сообщается в одной из опубликованных работ [23].

Интересно отметить, что выявленные в опухолях существенные отличия от нервной ткани в содержании и составе Ц и СЦ в значительной мере лишают опухоли головного мозга специфических для нервной ткани особенностей состава этих гликолипидов. Это хорошо согласуется с современными представлениями о злокачественной трансформации клеток как о процессе, связанном с их недоразвитием в ходе гистогенеза или дедифференцировкой [22, 23].

Представляется важным дальнейшее детальное изучение гликолипидов, прежде всего с длинной углеводной цепью, в злокачественных опухолях мозга с целью выявления характерных для трансформированных клеток индивидуальных гликолипидов. Такого рода исследования, особенно проведенные с использованием современных иммунохимических методов существенны для понимания роли гликолипидов в процессах злокачественной трансформации и клеточного узнавания.

STUDIES OF THE LEVEL AND COMPOSITION OF CEREBROSIDES AND SULFOCEREBROSIDES IN HUMAN BRAIN TUMORS

LEVITINA M. V., VASIL'EV A. A.

I. M. Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, USSR Academy of Sciences, Leningrad

This paper describes measurements of the content and composition of cerebroside and sulfocerebroside in five types of human brain tumors (glioblastoma, astrocytoma, medulloblastoma, neurinoma and meningioma) as well as in white and gray matter of the normal human brain. All studied tumors have an extremely low level of both glycolipid types as compared with normal white and gray matter. The fractional composition of cerebroside in these tumors also shows marked differences. The tumors contain high levels of glucocerebroside. There is an increased proportion of saturated normal fatty acids in cerebroside and sulfocerebroside of glioblastoma as compared with normal brain. These results are discussed in connection with the hypothetical role of altered glycolipid metabolism in malignant tissue transformation.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Ranport M. M., Gavanna R., Graf L. J. Neurochem., v. 4, № 1, p. 9-18, 1967.*
2. *Дятловицкая Э. В. Укр. бяхим. журн., т. 56, № 3, с. 263-267, 1984.*
3. *Schachner M. J. Neurochem., v. 39, № 1, p. 1-8, 1982.*
4. *Brady R. O. J. Amer. Oil Chem. Soc., v. 43, № 1, p. 67-69, 1966.*
5. *Hofstetter W., Bologna L., Wetterwald A., Z'graggen A., Blaser K., Herschko-witz N. J. Neurosci. Res., v. 11, № 4, p. 341-350, 1984.*
6. *Raff M. C., Mirsky R., Fields K. L., Dorfman S. H., Silberberg D. H., Greg-son N. A., Leibowitz S., Kennedy M. C. Nature, v. 274, № 5673, p. 813-816, 1978.*
7. *Raff M. C., Fields K. L., Nakomori S. -I, Mirsky R., Pruss R. M., Winter J. Brain Res., v. 174, № 2, p. 283-308, 1979.*
8. *Попова Г. М., Промыслов М. Ш. Бюл. эксперим. биол. и мед., т. 50, № 6, с. 71-73, 1962.*
9. *Dawson G., Sundarraj N., Pfeiffer S. E. J. Biol. Chem., v. 252, p. 2777-2779, 1977.*
10. *Robert J., Rebel G., Mandel P. J. Lipid Res., v. 18, № 4, p. 517-522, 1977.*
11. *Аюцин А. П., Вухерт Т. М., Касумова С. Ю. Вopr. нейрохирургии, № 2, с. 45-51, 1981.*
12. *Левитина М. В., Абрамова Л. Н., Крепс Е. М. — В сб.: Физиология и биохимия морских и пресноводных животных, с. 89-129. Л., Наука, 1979.*
13. *Kean E. L. J. Lipid Res., v. 7, № 3, p. 449-452, 1966.*
14. *Abe T., Norton W. T. J. Neurochem., v. 32, № 3, p. 823-832, 1979.*
15. *Podusto S. E. Advance. Exp. Med. Biol., v. 100, p. 71, 1978.*
16. *DeVries G. H., Zmachinski C. J. Neurochem., v. 34, № 2, p. 424-430, 1980.*
17. *Kornlat F. K., Hof L. J. Neurochem., v. 30, № 3, p. 577-561, 1978.*
18. *Stoolmiller A. C., Dawson G., Kemp S. K., Schachner M. J. Neurochem., v. 32, № 2, p. 637-642, 1979.*
19. *Podusto S. E., Miller K., Jang J. Cancer Res., v. 43, № 3, p. 1014-1018, 1983.*
20. *Svennerholm L., Vanler M. T., Jungbier B. J. Neurochem., v. 30, № 6, p. 1383-1390, 1978.*
21. *Brante G. Acta Physiol. Scand., v. 18, suppl. 63, 1949.*
22. *Самойлов В. Н. Диагностика опухолей головного мозга, Л., Медицина, 1985.*
23. *Goldman J. E., Geier S. S., Hirano M. J. Neurosci., v. 6, № 1, p. 52-60, 1984.*

Поступила 12.III.1990