



УДК 616.831—006.484—008.931—074

UDP-САХАРА В ОПУХОЛЯХ ГОЛОВНОГО МОЗГА ЧЕЛОВЕКА

ПОПОВА Г. М., ЮРКИНА Н. А., ПРОМЫСЛОВ М. Ш.

Институт нейрохирургии им. Н. Н. Бурденко АМН СССР, Москва

Исследовали содержание UDP-сахаров: UDPGlc и UDPGlcNAc в пробах опухолей головного мозга, полученных во время нейрохирургических операций. Было показано, что общее количество UDP сахаров (UDPGlc+UDPGINAc) в ткани опухоли выше, чем в нормальной ткани мозга.

На основании полученных данных можно предположить, что отношение UDPGlcNAc/UDPGlc может отражать характер и скорость опухолевого роста.

UDP-сахара являются метаболически активными соединениями и служат переносчиками гликозильных остатков, тем самым выполняя коферментную роль в биосинтезе углеводсодержащих соединений: гликолипидов, полисахаридов, гликопротеинов, мукополисахаридов и других веществ, многие из которых входят в состав клеточных мембран.

Изучение UDP-сахаров вызывает особый интерес при исследовании метаболических особенностей опухолевой ткани, так как при неопластической трансформации клеток имеют место изменения в количественном и качественном составе углеводсодержащих биополимеров клеточных мембран, в частности ганглиозидов, олигосахаридные цепи которых укорачиваются, в результате чего происходит упрощение состава этих соединений [1—8]. Важность исследования метаболических превращений углеводсодержащих соединений в опухолевых клетках обусловлена и тем, что укорочение олигосахаридных цепей гликолипидов и других гликоконъюгатов, характерное для трансформированных клеток, сопровождается значительным снижением или полной потерей способности клеток к межклеточному взаимодействию и контактному торможению клеточного роста и размножения [1, 4—8].

В то же время изучению UDP-сахаров в опухолях головного мозга посвящены лишь единичные сообщения [9]. Ранее нами [10] были проведены исследования UDP-сахаров в глиальных опухолях мозга человека. Настоящая работа посвящена изучению этих компонентов в различных опухолях мозга человека.

Материалы и методы

В работе были использованы пробы ткани опухолей головного мозга человека, полученные во время нейрохирургических операций, а также ткани мозга, по необходимости удаленной во время операции; исследовали и нормальную ткань мозга кролика.

Содержание UDP-сахара определяли по методу Zhivkov [11, 12], основанном на сочетании адсорбции свободных нуклеотидов на угле с дальнейшим хроматографическим разделением их на бумаге: он позволяет обнаружить малые концентрации UDP-сахаров в небольшом количестве ткани. Исследуемый материал помещали в жидкий азот. Замерзшую ткань в количестве 1 г растирали с 8 мл холодного раствора HClO_4 , затем центрифугировали 10 мин при 5000 г. Центрифугат доводили раствором KOH до pH 5—6, выпавший осадок KClO_4 отделяли центрифугированием. Свободные нуклеотиды из надосадочной жидкости выделяли адсорбцией на активированном угле («Norit A», США), а затем элюировали их 10%-ным раствором пиридина в 50%-ном этаноле при 37° в течение 2 ч. После удаления угля центрифугированием надосадочную жидкость, содержащую свободные нуклеотиды, упаривали в вакууме досуха при комнатной температуре. Остаток растворяли в 0,4 мл воды и 0,1 мл этого раствора брали для хроматографирования на фильтровальной бумаге № 4, промытой 1 н. CH_3COOH и водой. Проводили двумерную нисходящую хроматографию: в первом направлении в системе, состоящей из изомасляной кислоты, воды и 25%-ного аммиака в соотношениях 44:22:1 в течение 40 ч, а во втором направлении—в системе, состоящей из 95%-ного этанола и 1 М ацетат-аммонийного буфера pH 3,8 в соотношениях 7:3 в течение 15 ч. Пятна нуклеотидов на хроматограмме обнаруживали в ультрафиолете с помощью ультрахемископа, после чего их элюировали 2,5 мл воды в течение ночи при комнатной температуре. Оптическую плотность полученных растворов нуклеотидов определяли на спектрофотометре в кварцевых кюветках диаметром 1 см. UDP-сахара определяли при 262 нм, их количество рассчитывали, используя коэффициент молярной экстинкции для уридин-нуклеотидов, равный $9,9 \times 10^3$ и выражали в мкмоль/100 г влажной ткани.

UDP-сахара идентифицировали по спектрам, снятым в воде, 0,1 н. HCl , 0,1 н. NaOH и после бромирования [13], по соотношению общего и кислотолабильного фосфора, по углеводному остатку, а также с помощью свидетелей UDPGlc и UDPGlcNAc («Serva», ФРГ).

Содержание фосфора определяли по методу Hess, Derr [14], кислотолабильный фосфор—после гидролиза 1 н. H_2SO_4 , общий фосфор—сжиганием с 10%-ной H_2SO_4 в присутствии пергидроля. Углеводный остаток—гексозу определяли после 10-минутного гидролиза в 0,01 н. HCl глюкозооксидазным методом, а также гексокиназным методом на приборе «Fillpipett». Аминсахара определяли по методу Elson, Morgan [15] после предварительного гидролиза в течение 1 ч в 2 н. HCl .

Результаты и обсуждение

В табл. I приведены данные по содержанию UDPGlc, UDPGlcNAc и их суммарного количества, а также отношение UDPGlcNAc/UDPGlc в нормальной ткани головного мозга. Полученные нами величины включают и некоторое количество UDP-производных галактозы.

Общее содержание UDP сахаров в ткани головного мозга кролика в норме составляло в среднем 9,8 мкмоль/100 г ткани. Количество UDPGlc и UDPGlcNAc примерно одинаково, в результате чего их отношение было равно единице. В нормальной ткани мозга человека в одном случае количество UDP-сахаров было 9,2 мкмоль, в дру-

гом—16,13, в третьем—7,5 мкмоль/100 г ткани; соотношение UDPGlcNAc/UDPGlc при этом было равно 1 или даже ниже (0,94).

Ранее при исследовании UDP-сахаров в ткани глиом нами было показано, что в доброкачественных глиомах—олигодендроглиомах и астроцитомах—общее содержание UDP-сахаров было несколько ниже (соответственно 17,94 и 23,89 мкмоль), чем в дедифференцированных глиомах—33,21 мкмоль/100 г ткани (табл. 2). При этом было уста-

Таблица 1

UDP-сахара в нормальной ткани головного мозга
(мкмоль/100 г влажной ткани)

| Объект исследования | UDPGlc+ UDPGlcNAc | UDPGlc | UDPGlcNAc | UDPGlcNAc/ UDPGlc |
|---------------------|----------------------|---------------------|----------------------|----------------------|
| кролик (n=5) | 9,87±2,16 | 4,87±1,07 | 5,00±2,38 | 1,03 |
| человек | 9,2 16,13 7,50 | 4,58 7,9 3,86 | 4,63 8,23 3,64 | 1,01 1,04 0,94 |

Примечание. В табл. 1, 2, 3 n—количество опытов.

новлено, что наиболее информативным является не количество UDP-сахаров, а именно отношение UDPGlcNAc/UDPGlc. В доброкачественных глиомах это отношение было близко или равно 1, в дедифференцированных же оно оказалось намного выше и составляло от 2 до 3. Таким образом, для глиальных опухолей была выявлена корреляция между величиной отношения UDPGlcNAc/UDPGlc и степенью малигнизации опухоли.

Таблица 2

UDP-сахара в ткани глиом (мкмоль/100 г влажной ткани)

| Гистологическая характеристика | UDPGlc+ UDPGlcNAc | UDPGlc | UDPGlcNAc | UDPGlcNAc/ UDPGlc |
|--|----------------------|------------|------------|----------------------|
| Олигодендроглиомы (n=6) | 17,94±2,2 | 7,9±0,96 | 10,01±1,33 | 1,27±0,08 |
| Астроцитомы (n=7) | 23,89±5,8 | 11,73±2,78 | 12,16±3,01 | 1,03±0,04 |
| Дедифференцированные астроцитомы и глиобластомы (n=12) | 33,21±5,02 | 8,98±6,35 | 24,23±3,64 | 2,78±0,11 |

На основании этих данных нам казалось интересным произвести определения указанных соединений в опухолях головного мозга и другой, не глиальной, природы. Так, была исследована группа опухолей—менингиом. Эти опухоли, имея одну морфологическую природу, могут различаться по характеру и скорости опухолевого роста. В каждом исследованном нами случае биохимические данные были сопоставлены с гистологическими. Важно было выяснить, существует ли корреляция между биохимическими данными и степенью малигнизации также в случае и этих опухолей или же это характерно только для глиом. Полученные результаты приведены в табл. 3.

Они показывают, что содержание UDP-сахаров в этих опухолях в большинстве случаев колебалось от 21,93 до 29,54 мкмоль. Результаты, полученные при подсчете соотношений UDPGlcNAc/UDPGlc, позволили выделить 4 подгруппы. Величина отношения UDPGlcNAc/UDPGlc в подгруппе I была наименьшей и равна 2. В этой подгруппе представлены доброкачественные менингиомы, которые отличались по содержанию и соотношению UDP-сахаров от глиальных опухолей. Если в доброкачественных глиомах отношение UDPGlcNAc/UDPGlc было близким к 1, то в доброкачественных менингиомах оно было равно 2. Суммарное количество UDP-сахаров в них было выше, чем в добро-

Таблица 3

UDP-сахара в ткани менингиом (мкмоль/100 г влажной ткани)

| Под- группа | UDPGlc+ UDPGlcNAc | UDPGlc | UDPGlcNAc | UDPGlcNAc/ UDPGlc |
|----------------|----------------------|-----------|------------|----------------------|
| I (n=5) | 29,54±3,2 | 9,5±1,04 | 20,04±2,2 | 2,10±0,07 |
| II (n=6) | 21,93±2,31 | 5,73±0,89 | 16,20±1,69 | 2,8±0,13 |
| III (n=5) | 24,26±0,64 | 5,3±0,37 | 18,96±0,37 | 3,62±0,19 |
| IV | 21,00 | 3,2 | 17,83 | 5,60 |
| | 37,05 | 4,88 | 32,17 | 6,59 |
| | 29,30 | 4,65 | 24,65 | 5,30 |
| | 26,74 | 1,61 | 25,14 | 15,66 |

качественных глиомах. В подгруппах II и III величины отношения UDPGlcNAc/UDPGlc были соответственно 2,8 и 3,6. Эти случаи характеризовались большей скоростью роста, иногда большим сроком заболевания. При этом были отмечены в большей или меньшей степени также и признаки малигнизации (митозы, полиморфизм). Дальнейшим подтверждением выявленной закономерности могут быть результаты, относящиеся к менингиомам подгруппы IV. В этих случаях величины отношения UDPGlcNAc/UDPGlc были очень высокими (от 5,6 до 15,0). Эти опухоли характеризовались бурным и чаще всего инфильтративным ростом, достигали больших размеров и гистологически имели выраженные злокачественные признаки. Все эти случаи были рецидивирующими.

Таким образом, несмотря на некоторые особенности менингиом, в них выявилась та же закономерность, что и в глиомах.

Далее, чтобы подтвердить такие данные, нам казалось целесообразным произвести определения UDP-сахаров и в некоторых других опухолях. Полученные при этом результаты сведены в табл. 4. Они подтверждают, что в злокачественных опухолях величины отношения UDPGlcNAc/UDPGlc такие же, как в недифференцированных глиомах и глиобластомах. В доброкачественных же опухолях—невриноме и олигоастроцитоме—отношение UDPGlcNAc/UDPGlc является близким к 1. Как видно из табл. 4, и в случае этих опухолей прослеживается та же закономерность, что и в других исследованных нами опухолях, о которых было сказано выше.

Таким образом, полученные в работе данные позволяют думать о том, что соотношение UDPGlcNAc/UDPGlc может служить показателем характера и скорости опухолевого роста. Анализируя полученные данные, следует отметить, что при малигнизации опухолей увеличение отношения UDPGlcNAc/UDPGlc происходило как за счет увеличения количества UDPGlcNAc, так и в результате уменьшения количества UDPGlc. Увеличение количества UDPGlcNAc в изученных нами опухолях согласуется с данными, полученными на индуцированных вирусами опухолях животных [16—18].

Таблица 4

UDP-сахара в различных опухолях головного мозга
(мкмоль/100 г влажной ткани)

| Гистологическая характеристика опухоли | UDPGlc+ UDPGlcNAc | UDPGlc | UDPGlcNAc | UDPGlcNAc/ UDPGlc |
|--|----------------------|--------|-----------|----------------------|
| <i>Злокачественные</i> | | | | |
| ангиоретикулосаркома | 19,5 | 5,3 | 14,2 | 2,68 |
| эпендимобластома | 18,3 | 4,5 | 13,8 | 3,06 |
| перипиома | 13,96 | 3,7 | 10,26 | 2,77 |
| метастаз рака | 17,9 | 4,9 | 13,0 | 2,6 |
| эпендимобластома | 21,75 | 6,25 | 15,5 | 2,5 |
| | 24,49 | 6,20 | 18,29 | 2,95 |
| <i>Доброкачественные</i> | | | | |
| олигоастроцитомы | 15,0 | 7,0 | 8,0 | 1,14 |
| невринома | 11,9 | 5,3 | 6,6 | 1,24 |

В литературе имеются указания на снижение активности ферментов, участвующих в биосинтезе углеводсодержащих биополимеров, в трансформированных опухолевым вирусом клетках [1, 18]. Изменения эти являются различными в разных опухолях.

Изменения в соотношении UDPGlcNAc/UDPGlc и в исследованных нами опухолях также могут быть связаны с изменением активности ферментных систем, участвующих в образовании и превращении этих соединений. В частности, снижение количества UDPGlc может быть обусловлено снижением активности UDP-глюкозилпрофосфорилазы.

Заслуживает внимания тот факт, что за исключением опухолей астроцитарного ряда, в которых суммарное количество UDPGlcNAc+UDPGlc несколько выше в дедифференцированных опухолях, чем в доброкачественных, во всех других опухолях (табл. 3 и 4) общее количество UDP-сахаров не зависело от степени малигнизации опухоли. Различия, связанные со степенью малигнизации, проявлялись в величинах отношения UDPGlcNAc/UDPGlc.

UDP-SUGARS IN HUMAN BRAIN TUMOURS

POPOVA G. M., YURKINA N. A., PROMYSLOV M. SH.

N. N. Burdenko Institute of Neurosurgery, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

The content of UDP-sugars: UDP-glucose (UDPG) and UDP-N-acetyl-glucosamine (UDPAG) was studied in brain tumours, obtained at surgery. It was shown that the total amount of UDP-sugars was higher in tumour tissue compared with brain tissue. The investigation of ratio UDPAG/UDPG proved to be very important as a certain correlation was revealed. In benign gliomas the ratio UDPAG/UDPG was close to 1. In brain tissue of human and rabbit the ratio was also 1. In malignant gliomas the ratio UDPAG/UDPG was elevated to 2—3. In other malignant tumours (not gliomas) this ratio also was 2,5—4 and sometimes even higher.

On the basis of the data reported it may be suggested that the ratio UDPAG/UDPG may reflect the peculiarity and rate of tumour growth.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Brady R. O., Fishman P. H. *Biochim. et biophys. acta*, v. 355, p. 121—148, 1974.
2. Perdue J. F., Kleitzen R., Wray W. L. *Biochim. et biophys. acta*, v. 266, № 2, p. 505—510, 1972.
3. Cheema P., Yogeewaren G., Morris H. P., Murray R. K. *FEBS Lett.*, v. 11, № 3, p. 181—183, 1970.
4. Hakomori S. J., Murakami W. T. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, v. 59, № 1, p. 254, 1968.
5. Hakomori S. J. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, v. 67, № 4, p. 1741—1747, 1970.
6. Hakomori S. J., Yong W. W., Patt L. M., Yoshino T., Halfpap L., Lingwood C. A. *Adv. Exp. Med. Biol.*, v. 125, p. 217—262, 1980.
7. Hakomori S. *Biochim. et biophys. acta*, v. 417, p. 55—89, 1975.
8. Видершайн Г. Я. В кн.: Успехи биол. химии, т. 20, М., Наука, с. 46—70, 1979.
9. Wintzerlith M., Ciesielski-Treska J., Dierich A., Mandel P. J. *Neurochem.*, v. 26, p. 315—317, 1976.
10. Попова Г. М. *Вопр. мед. химии*, т. 29, № 1, с. 20—23, 1983.
11. Zhivkov V., Tosheva R., Zhivkova Y. *Comp. Biochim. and Physiol.*, v. 51—B, p. 421—424, 1975.
12. Zhivkov V. *Biochem. J.*, v. 120, p. 505—508, 1970.
13. Venkster T. V., Baev A. A. *Spectra of nucleic acid compounds*. New York, 1968.
14. Hess H. H., Derr J. E. *Anal. Biochem.*, v. 63, p. 607—613, 1975.
15. Методы биохимических исследований (Ред. М. И. Прохорова), с. 118—119, Л., ЛГУ, 1982.
16. Chelibonova-Lorer H. *Neoplasma*, v. 22, № 1, p. 23—27, 1974.
17. Chelibonova-Lorer H., Zhivkov V., Yakimov M. *Neoplasma*, v. 19, № 4, p. 243—297, 1972.

Поступила 19. VI. 1984