

УДК 616.12—008.331.1+612.397.8.015.3

Э. Е. МХЕЯН, О. П. СОЦКИЙ, Г. М. САРКИСОВА, В. Г. ПАГЛАВЯН

КИСЛЫЕ ГЛИКОЛИПИДЫ ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКИ В НОРМЕ И ПРИ ГИПЕРТОНИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ

На трупном материале /печень и селезенка/ практически здоровых людей и больных гипертонией исследовались кислые гликолипиды печени и селезенки. Изучение в них молярных отношений гексоз к нейраминовой кислоте показало, что для кислых гликолипидов селезенки характерны фракции с большим содержанием гексоз, приходящихся на 1 молекулу нейраминовой кислоты по сравнению с гликолипидными фракциями печени.

В настоящее время в литературе появляется все большее число работ, свидетельствующих о выраженных изменениях количественного и качественного состава гликолипидов тканей при ряде заболеваний, не связанных с наследственным нарушением метаболизма гликолипидов [7, 9, 10]. Нашими исследованиями по изучению гликолипидного состава крови больных гипертонией было выявлено заметное их увеличение по сравнению с уровнем гликолипидов крови практически здоровых людей. Причем наибольшие сдвиги в количестве гликолипидов отмечались в форменных элементах крови [1]. Работами С. А. Мирзояна и Э. Е. Мхеяна с сотр. [3—5] установлено также увеличение количества различных фракций гликолипидов (ганглиозидов и цереброзидов) в крови, взятой у больных через 1—3 суток после перенесения гипертонического инсульта [5].

Источник дополнительного количества гликолипидов в крови пока не установлен. Не исключается, что, кроме кроветворных органов, дополнительными источниками могут быть печень и селезенка.

Для выяснения этого вопроса нами изучен качественный и количественный состав печени и селезенки в норме и у больных гипертонией.

Материал и методы исследования

Объектом исследования служил аутопсический материал (печень и селезенка) практически здоровых и больных гипертонией, взятый через 12—20 часов после наступления смерти.

Экстракцию гликолипидов печени и селезенки проводили дважды: первый раз смесью хлороформ:метанол (1:1 V/V из расчета 10 мл смеси на 1 г сухого порошка) в течение трех часов и второй — смесью хлороформ: метанол (2:1 V/V из того же расчета). Сухой остаток растворяли в смеси хлороформ: метанол (2:1) и в дальнейшем обрабатывали по общепринятым методам [6]. Водно-метаноловые экстракты после 36-часового диализа высушивались под вакуумом при $t=40^{\circ}\text{C}$.

Дальнейшую очистку гликолипидов (ганглиозидов) проводили колоночной хроматографией на сорбенте—силикагеле марки КСК (100 меш), активированном в течение 12 часов при температуре 120°C . Через колонку с 200 мг неочищенной фракции кислых гликолипидов пропускалось 500 мл хлороформа. В последующем через колонку пропускали 1500 мл 5% раствора метанола на хлороформе (удельный вес раствора=1,444—1,445) для удаления цереброзидов. Кислые гликолипиды элюировали с колонки с помощью 7,5% раствора метанола на хлороформе (удельный вес 1,425). Скорость истечения растворителей сохранялась постоянной и составляла 37—40 капель в минуту. Элюат, содержащий кислые гликолипиды, количественно собирали, упаривали досуха в ротационном испарителе при $t=40^{\circ}\text{C}$.

Сухой остаток растворяли в хлороформ-метаноле (2:1) и использовали для фракционирования методом одномерной ТСХ на силикагеле марки КСК (100 меш, толщина слоя 250 ммк) в системе растворителей хлороформ:метанол:вода (65:35:8) [6, 7]. Пластины проявляли парами йода. Ганглиозиды элюировали с силикагеля тремя смесями растворителей (по 10 мл каждый): 1—хлороформ:метанол (2:1). 2—хлороформ:метанол:вода (60:35:8) и 3—чистый метанол. Экстракты смешивали и выпаривали. Сухой остаток каждой фракции использовали для определения в нем галактозы антроновым [8] и нейраминовой кислоты тиобарбитуровым методами [14]. Полученные результаты подвергнуты статистической обработке.

Результаты и обсуждение

В наших исследованиях кислые гликолипиды селезенки практически здоровых людей методом ТСХ в системе растворителей хлороформ:метанол:вода разделяли на 5 фракций, причем 3 и 4 фракции состояли из двух отчетливо видимых подфракций. Нами также сделана попытка количественной характеристики этих фракций по содержанию в них галактозы и нейраминовой кислоты. Как видно из данных, приведенных в табл. 1, отдельные фракции кислых гликолипидов селезенки практически здоровых людей отличаются друг от друга как по содержанию гексоз, так и нейраминовой кислоты. Особенно резко по этим основным компонентам отличается 1 и 5-я фракции кислых гликолипидов, считая от линии старта. Анализ соот-

ношений гексоз и нейраминовой кислоты во фракциях показывает, что для кислых гликолипидов селезенки характерно преимущественное содержание фракций, характеризующихся высоким содержанием гексоз, приходящихся на одну молекулу нейраминовой кислоты (1 и 2 фракции). Одновременно эти фракции отличаются наименьшей подвижностью. Из быстродвижущихся фракций (3—5) четвертая содержится в наибольшем количестве и по содержанию в ней гексоз и нейраминовой кислоты уступает лишь 1-й фракции. Удельный вес 3 и 5-й фракций, характеризующихся наименьшим содержанием гексоз, приходящихся на 1 молекулу нейраминовой кислоты, небольшой и составляет соответственно 10 и 7% от общих кислых гликолипидов практически здоровых людей. Такие фракции описаны в литературе [15].

Таблица 1

Кислые гликолипиды селезенки в норме и при гипертонии (из расчета на 1 г сухой ткани в мкм галактозы и липидсвязанной нейраминовой кислоты, $M \pm m$)

Номер фракции	К о н т р о л ь			Г и п е р т о н и я		
	галактоза	нейрамино- вая кислота	молярное соотноше- ние	галактоза	нейрамино- вая кислота	молярное соотноше- ние
1	$0,55 \pm 0,04$	$0,09 \pm 0,002$	6,1:1	$0,17 \pm 0,02$	$0,04 \pm 0,01$	4:1
2	$0,16 \pm 0,01$	$0,038 \pm 0,004$	4,1:1	$0,96 \pm 0,06$	$0,12 \pm 0,02$	8:1
3	$0,12 \pm 0,01$	$0,040 \pm 0,001$	3,0:1	$0,21 \pm 0,01$	$0,668 \pm 0,005$	3:1
4	$0,12 \pm 0,01$	$0,047 \pm 0,003$	2,6:1	$0,12 \pm 0,011$	$0,037 \pm 0,01$	3,2:1
5	$0,08 \pm 0,008$	$0,03 \pm 0,009$	2,8:1	$0,096 \pm 0,01$	$0,06 \pm 0,01$	1,6:1
	$\Sigma = 1,08$	$\Sigma = 0,218$		$\Sigma = 1,55$	$\Sigma = 0,32$	

Примечание. Приведены результаты статистической обработки 10 опытов.

Сравнивая фракционный состав кислых гликолипидов селезенки больных, страдающих гипертонией, с фракционным составом практически здоровых людей (табл. 1), можно найти определенные отличия. Анализ полученных данных показывает, что в общей фракции кислых гликолипидов у больных наблюдается заметное увеличение содержания гексоз и нейраминовой кислоты. Причем увеличение этих главных компонентов ганглиозидов происходит почти в одинаковой степени, что говорит о накоплении гликолипидов в этих органах. Изучение молярных соотношений показывает, что в кислых гликолипидах больных гипертонией наблюдается также изменение и во фракционном составе, о чем свидетельствуют изменения в молярном соотношении гексоза: нейраминовая кислота во 2 и 5-й фракциях. Молярное же соотношение в 3 и 4-й фракциях по сравнению с контролем не изменяется, хотя количество 3-й фракции у гипертоников несколько повышается, если судить по увеличению в ней содержания гексоз и нейраминовой кислоты. Обращает на себя внимание увеличение в 2 раза со-

держания нейраминавой кислоты с почти неизменным содержанием гексоз в 6-й фракции.

Эти данные свидетельствуют о заметных качественных и количественных сдвигах во фракционном составе кислых гликолипидов селезенки у больных гипертонией. Исследование фракционного состава кислых гликолипидов печени практически здоровых людей (табл. 2) показало, что он отличается от фракционного состава ганглиозидов селезенки. Здесь, как видно из сравнения молярного соотношения гексоза: нейраминавая кислота, преобладают сиапглицозилцерамиды с большим процентным содержанием нейраминавой кислоты в молекуле. Анализ молярного соотношения также дает возможность предположить, что основными компонентами кислых гликолипидов печени здоровых людей являются три- и ди-сиаптетраглицозилцерамиды и моносиапглицозилцерамиды типа G_M. Схожие данные были получены Э. В. Дятловицкой с соавт. при изучении ганглиозидного сос-

Таблица 2

Кислые гликолипиды печени в норме и при гипертонии (из расчета на 1г сухой ткани в мкм галактозы и липидсвязанной нейраминавой кислоты, M $\pm$ m)

Номер фракции	К о н т р о л ь			Г и п е р т о н и я		
	галактоза	нейрамина- вая кислота	молярное соотноше- ние	галактоза	нейрамина- вая кислота	молярное соотноше- ние
1	0,110 $\pm$ 0,07	0,068 $\pm$ 0,01	1,63:1	0,11 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	2,2:1
2	0,137 $\pm$ 0,03	0,08 $\pm$ 0,02	1,72:1	0,41 $\pm$ 0,017	0,12 $\pm$ 0,06	3,4:1
3	0,070 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,03	1,4:1	0,26 $\pm$ 0,010	0,12 $\pm$ 0,03	2,1:1
4	0,110 $\pm$ 0,03	0,053 $\pm$ 0,02	2,0:1	0,21 $\pm$ 0,09	0,10 $\pm$ 0,06	2,1:1
5	0,131 $\pm$ 0,08	0,040 $\pm$ 0,01	3,2:1	0,15 $\pm$ 0,03	0,05 $\pm$ 0,02	3:1
6	0,07 $\pm$ 0,02	0,03 $\pm$ 0,01	2,3:1	0,061 $\pm$ 0,01	0,045 $\pm$ 0,015	1,35:1
	$\Sigma=0,565$	$\Sigma=0,321$		$\Sigma=1,23$	$\Sigma=1,23$	

Примечание. Приведены результаты статистической обработки 10 опытов.

тава печеночной ткани здоровых крыс [2]. Изучение ганглиозидного состава печени больных гипертонией (табл. 2) показывает, что здесь, как и в селезенке больных гипертонией, происходит увеличение содержания гексоз и нейраминавой кислоты. Причем увеличение гексоз не сопровождается одинаковой степенью увеличения N-ацетил-нейраминавой кислоты. Этот факт, естественно, находит свое отражение в молярных соотношениях гексоза: нейраминавая кислота. Из анализа этих соотношений ясно видно, что 1, 2, 3 и 6-я фракции кислых ганглиозидов гипертоников заметно отличаются по своему составу от соответствующих фракций кислых гликолипидов, выделенных из печени практически здоровых людей (табл. 2).

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о заметных изменениях качественного и количественного характера, происходящих во фракциях кислых гликолипидов печени и селезенки больных ги-

пертонией. Факт накопления ганглиозидов в печени и селезенке больных гипертонией является важным с точки зрения установления роли гликолипидов или продуктов их катаболизма в развитии гипертензии. Нашими ранними исследованиями по изучению биологической активности различных классов гликолипидов было показано, что они обладают выраженным вазоконстрикторным действием [3, 4]. Являются ли гликолипиды печени и селезенки источником гликолипидов крови у больных гипертонией—трудно ответить, исходя из полученных данных. Необходимо в дальнейшем доказать идентичность кислых гликолипидов крови больных гипертонией с кислыми гликолипидами печени и селезенки. О правомерности такого предположения свидетельствуют работы Svennerholm, Jatakawa [12, 13], которые, изучая фракционный состав гликолипидов человеческой сыворотки, печени и селезенки, обнаружили определенное сходство их состава с гликолипидами стромы эритроцитов.

Кафедра общей и клинической химии
Ереванского медицинского института,
Отделение клинической биохимии НИИ
курортологии и физиотерапии им. А. А. Акопяна

Поступила 25/V 1979 г.

Է. Ե. ՄԿԵՅԱՆ, Օ. Պ. ՍՈՏՑԻ, Գ. Մ. ՍԱՐԿԻՍՈՎԱ, Վ. Գ. ՓԱՀԼԱՎՅԱՆ

ԼՅԱՐԴԻ ԵՎ ՓԱՅՄԱՂԻ ԹԹՈՒ ԳԼԻԿՈԼԻՊԻԴՆԵՐԸ ՆՈՐՄԱՅՈՒՄ ԵՎ ՀԻՊԵՐՏՈՆԻԿ ՀԻՎԱՆԴՈՒԹՅԱՆ ԴԵՊՔՈՒՄ

Գործնականորեն առողջ և հիպերտոնիայով հիվանդ մարդկանց լյարդի և փայծաղի դիանյութում հետազոտված թթու գլիկոլիպիդները բաժանվել են 6 և 5 հիմնական ֆրակցիաների: Նրանցում հեքսոզների և նեյրամինաթթվի մոլյար հարաբերակցությունն այսպիսին է: Փայծաղի գլիկոլիպիդներին բնորոշ ֆրակցիաներում 1 մոլեկուլ նեյրամինաթթվին համապատասխանում է հեքսոզների ավելի մեծ քանակ, քան լյարդի գլիկոլիպիդների ֆրակցիաներում, ուր 1 մոլեկուլ նեյրամինաթթվին համապատասխանում է 2 և 3 անհարաբերաբար միավոր:

E. E. MKHEYAN, O. P. SOTSCI, G. M. SARKISOVA, V. G. PAHLAVIAN

LIVER AND SPLEEN ACID GLICOLIPIDS IN THE NORM AND DURING THE HYPERTENSION

On the liver and spleen dead material of the practically healthy men and the ones with hypertension acid glycolipids were examined. They turned out to be divided into 6 and 5 main fractions. Accordingly the hexose and neuraminic acid molar ratio study showed that in the spleen acid glycolipids fractions to 1 mol neuraminic acid corresponds greater quantity of hexose than that in the liver glycolipids fractions.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорян Э. Х., Кочарян К. М. Материалы научной конференции молодых ученых, посвященной 25 съезду КПСС. Ереван, 1975, стр. 17.
2. Дятловицкая Э. В., Новиков А. М. и Бергельсон А. А. Биохимия, 1974, 39, 6, стр. 552.
3. Мирзоян С. А., Мхоян Э. Е., Секоян Э. С., Соцкий О. П. ДАН СССР, 1971, 201, 2, стр. 507.
4. Мирзоян С. А., Мхоян Э. Е., Секоян Э. С., Соцкий О. П. ДАН СССР, 1974, 214, 1, стр. 228.
5. Мирзоян С. А., Мхоян Э. Е., Секоян Э. С., Григорян Э. Х. В кн.: Клинические и экспериментальные исследования расстройств мозгового и коронарного кровообращения. Ереван, 1976, стр. 3.
6. Прохорова М. И., Тупикова Э. Н. Большой практикум по углеводному и липидному обмену. Л., 1965, стр. 3.
7. Brecenrige W. C. and Halborn J. H. Lipids, 1975, 10, 4, p. 256.
8. Evers U., Kuns D. und Egger E. Z. Med. Labortechnik, 1974, 15, 1, p. 202.
9. Foorte J. L. and Coles E. J. J. Lipid Res., 1968, 9, 4, p. 482.
10. Hausser L., Bernhard J. Physiology Chem., 1963, 331, 1, p. 41.
11. Seyma J. and Yamakawa. Biochem. J., 1974, 75, 4, p. 837.
12. Svennerholm E., Svennerholm L. Nature, 1963, 198, 4881, p. 688.
13. Wagner A. Clin. Chem. Acta, 1964, 10, 1, p. 175.
14. Warren L. J. Biol. Chem., 1955, 234, 4, p. 1971.
15. Wugandt H. Eur. J. Biochem., 1974, 45, 2, p. 367.