

М. Н. ТАГМИЗЯН

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ РАСТВОРИМЫХ БЕЛКОВ РАКОВЫХ ОПУХОЛЕЙ ЖЕЛУДКА И ОТДЕЛЬНОЙ ИХ ФРАКЦИИ

В настоящей работе мы остановились на исследовании растворимых белков раковых опухолей желудка человека, путем определения качественного и количественного состава входящих в них аминокислот. Мы определяли также аминокислотный состав отдельной фракции, полученной при электрофоретическом разделении растворимых белков на бумаге [1].

Предпринимая эту работу, мы имели в виду и то, что хотя рак желудка является наиболее часто встречающейся опухолью человека, однако литературные данные о растворимых белках оказались очень скудными и противоречивыми.

Серафино [2] указывает на уменьшение количества белков в соседних частях слизистой оболочки с опухолями или язвой.

При исследовании растворимых в ледяной уксусной кислоте белков раковой ткани и слизистой оболочки желудка не было обнаружено каких-либо отличий между ними [3, 4].

Азюма Мазюкава [5, 6, 7] выделил три белковые фракции из слизистой оболочки и раковой опухоли желудка человека, фракционируя их с помощью уксусной кислоты. Судя по растворимости, качественному и количественному анализу, оптическому вращению, белки слизистой оболочки и рака желудка были совершенно сходны друг с другом, но в их электрофоретической подвижности и при качественном и количественном анализе состава аминокислот обнаружили различия.

Отличия биологических свойств были установлены между водорастворимыми белками как раковой ткани и слизистой желудка, так и между водорастворимыми белками желудочного сока больных раком желудка и здоровых людей [8]. Однако те же авторы [9], хроматографией на бумаге исследуя химический состав белков и мукопротеидов раковых и нераковых тканей и соков желудка, не обнаружили каких-либо различий между ними.

Определение аминокислотного состава водорастворимых белков рака и слизистой оболочки желудка проводилось Мерлеведом и сотр. [10], но количественный состав аминокислот этих белков в литературе не изучен.

Методика. Исследуемые ткани — слизистая оболочка и раковая опухоль желудка — брали сразу же после их хирургического удаления. Кусочки тканей тщательно промывали проточной холодной водой, слизистую оболочку отделяли от нижележащего мышечного слоя, слизь удаляли механическим путем. Ткань рака желудка отделяли от

слизистой оболочки и мышечного слоя (когда опухоль не проросла мышечный слой) механическим путем.

Пропитанные кровью участки тканей не брали для исследования. Экстрагирование растворимых белков проводили с равным объемом физиологического раствора NaCl по методу, описанному нами в предыдущей работе [1]. В полученном экстракте определяли количество белка методом Кьельдаля.

Полученный экстракт растворимых белков осаждали с равным объемом трихлоруксусной кислоты, осадок отфильтровывали на фильтре Шота, промывали спиртом, смесью спирта и эфира (2,5 : 7,0) и эфиром, последний удаляли испарением. Белковый порошок сушили в сушильном шкафу при температуре 105°C до постоянного веса, после чего подвергали кислотному гидролизу. Для этого 20—30 мг сухого белка помещали в колбу, добавляли 10—15 мл 6 N HCl и кипятили с обратным холодильником 15 час. в вытяжном шкафу. Гидролизат упаривали 4 раза в вакууме при температуре 50—60° для удаления избытка соляной кислоты, сухой остаток растворяли 2—3 мл дистиллированной воды. Раствор фильтровали для отделения гуминов, в фильтрате определяли аминокислотный состав методом хроматографии на бумаге.

При исследовании аминокислотного состава отдельных белковых фракций, бумажные полоски, их содержание (после определения количества белка в них по методу Кьельдаля), подвергали гидролизу с 6 N HCl в течение 15 час. Из гидролизата удаляли избыток соляной кислоты, остаток растворяли в 1 мл дистиллированной воды, отделяли от гуминовых веществ фильтрованием и в фильтрате проводили определение аминокислот.

Состав аминокислот устанавливали методом олимерной восходящей бумажной хроматографии на бумаге ватман № 4 в случае суммарных растворимых белков и на бумаге ватман № 1 при отдельной белковой фракции.

Перед употреблением листы хроматографической бумаги ватман № 1 промывали 0,15% раствором 8-оксехинолина.

Растворителем служила смесь н-бутилового спирта, уксусной кислоты и воды (4 : 1 : 1). Проявление пятен аминокислот проводили 0,5% раствором индигриина в ацетоне, содержащем 5% уксусной кислоты.

Элюцию осуществляли раствором метанола, содержащим 0,04% азотнокислой меди. Элюаты фотометрировали в фотоэлектроколориметре (ФЭК-М) с зеленым фильтром. Количество отдельных аминокислот вычисляли по графику, построенному для каждой аминокислоты на основании ее реакции с индигрином.

Результаты исследования. Для определения количества растворимых белков в тканях опухолей и слизистой оболочки мы исследовали 36 желудков. Из 36 опухолей по гистологической картине 24 оказались аденокарциномами в основном железисто-солидного строения и 12 — слизистым раком.

Как показывают наши исследования, гистологическая картина опухолей желудка определенным образом отражается на содержании белков. Результаты наших опытов отдельно для каждого гистологического вида припедены в табл. 1.

Из представленных данных видно, что в экстрактах железисто-солидного рака желудка белки составляют 3,09%, в экстрактах слизистого рака 2,21%. В экстрактах, полученных из участков слизистой оболочки, не пораженных опухолью, найдено 2,27 и 2,15% белков.

Для исследования аминокислотного состава растворимых белков было исследовано 5 случаев рака желудка. В качестве контроля анализировали состав аминокислот слизистой оболочки этих желудков. Эксперименты показали, что в исследуемых гидролизатах растворимых белков

Таблица 1

Содержание растворимых белков в экстрактах раковых опухолей
и слизистой оболочки

Материал	Ткань	Растворимые белки (в %)
Железисто-солидный рак	опухоль	3,09
	слизистая	2,27
Слизистый рак	опухоль	2,21
	слизистая	2,15

опухолей и слизистой оболочки обнаруживаются по 14 аминокислот — цистеин, лизин, аргинин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, серин, глицин, треонин, аланин, тирозин, валин, фенилаланин, пролин и лейцин.

Наряду с качественным анализом мы исследовали также количественный состав аминокислот белков рака и слизистой оболочки желудков (табл. 2). Следует отметить, что содержание цистеина нами не определялось. Судя по нашим результатам, в белках как рака, так и слизистой оболочки желудков в наибольшем количестве содержится глутаминовая кислота, в то же время тирозина очень мало. В белках опухолей, по сравнению с белками слизистой оболочки, содержатся некоторые аминокислоты — лизин, аргинин, глицин, серин, лейцин, аспарагиновой и глутаминовой кислот — незначительно больше. Другие аминокислоты — аланин, треонин, валин, тирозин, фенилаланин, пролин — в белках опухолей и слизистой оболочке находятся в равных количествах.

Чтобы судить о качественном и количественном составе аминокислот отдельных белковых фракций опухолей и слизистой оболочки желудков мы остановились на исследовании I (самой быстро движущей фракции при электрофоретическом разделении на бумаге) фракции, поскольку, на ее долю приходится значительная часть растворимых белков и, кроме этого, имеется заметное различие в содержании данной фракции в протених опухолей и слизистой оболочки.

Для анализа было взято 12 препаратов рака и слизистой оболочки. Во всех этих препаратах было найдено по 16 аминокислот — глицин, аланин, лейцин, валин, серин, цистеин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты, треонин, лизин, аргинин, гистидин, тирозин, метионин, фенилаланин, пролин. Результаты количественного определения приведены в табл. 3. Как показывают данные, отсутствуют заметные различия и в количественном составе аминокислот I фракции белков опухолей и слизистой оболочки желудков. Наблюдается лишь незначительная разница в содержании некоторых аминокислот — фенилаланина, метионина, тирозина, лейцина и глутаминовой кислоты.

Таким образом, наши результаты показывают, что в тканях железисто-солидного рака желудка растворимых белков содержится значительно больше, чем в слизистой оболочке. Кроме того, гистологическая кар-

Таблица 2

Аминокислотный состав растворимых белков рака и слизистой оболочки желудка (средние данные) в мг на 1 г сухого веса белка

Исследуемая ткань	Лизин	Аргинин	Аспаргиновая кислота	Глицин	Серин	Глутаминовая кислота	Треонин	Аланин	Тирозин	Валин	Фенилаланин	Лейцин	Прост	Цистеин
Опухоль	106,8 ±4,5	100,6 ±3,5	97,8 ±1,7	44,8 ±2,3	35,0 ±1,2	160,8 ±9,7	55,8 ±1,5	63,2 ±2,7	27,2 ±1,5	71,6 ±2,9	41,4 ±2,4	138,0 ±3,1	44,4 ±1,9	Следы
Слизистая оболочка	96,8 ±4,9	93,4 ±3,9	91,6 ±1,6	36,4 ±2,3	29,2 ±1,0	140,2 ±6,7	52,8 ±2,6	60,8 ±2,6	23,0 ±1,6	69,4 ±3,4	40,8 ±3,3	124,2 ±2,5	42,8 ±1,5	Следы

Таблица 3

Аминокислотный состав отдельных белковых фракций тканей желудка (средние данные) в мг на 1 г сухого белка

Рак желу- дка	Исследуемая ткань	Лизин	Гистидин	Аргинин	Аспаргиновая кислота	Серин	Глицин	Глутаминовая кислота	Треонин	Аланин	Пролин	Тирозин	Метионин	Валин	Фенилаланин	Лейцин	Цистеин
		Опухоль	53,6 ±1,3	31,3 ±0,6	42,4 ±0,8	26,7 ±0,3	40,2 ±0,8	44,8 ±0,4	173,2 ±1,6	50,4 ±1,3	184,8 ±3,7	52,3 ±1,3	28,2 ±1,1	29,1 ±0,3	85,4 ±1,8	43,9 ±1,1	170,9 ±1,3
	Слизистая оболочка	49,2 ±1,1	31,6 ±0,9	38,4 ±0,6	26,2 ±0,4	41,9 ±1,9	41,9 ±0,4	164,4 ±1,4	48,0 ±1,2	178,9 ±1,7	47,0 ±1,1	33,0 ±0,3	24,3 ±1,0	81,2 ±2,4	48,2 ±2,1	158,3 ±1,2	Следы

тина опухолей определенным образом отражается на содержании растворимых белков.

Наши данные согласуются с данными Мерлеведа и согр [10] о сходстве качественного состава аминокислот растворимых белков раковых опухолей и слизистой желудка. Они не отличаются также по количественному составу аминокислот.

Показано, что нет значительных отличий и при качественном и количественном анализе состава аминокислот I белковой фракции растворимых белков рака и слизистой оболочки желудка.

Вышеуказанные данные согласуются с наблюдениями Зауберлиха и Блаумана [11] относительно качественного и количественного состава аминокислот опухолей и нормальных тканей других органов.

В ы в о д ы

1. Физиологическим раствором NaCl, из тканей слизистого рака и слизистой оболочки желудка экстрагируется одинаковое количество растворимых белков. В тканях железисто-солидного рака растворимых белков больше, чем их имеется в слизистой оболочке.

2. При хроматографическом анализе на бумаге кислотных гидролизатов растворимых белков рака и слизистой оболочки желудков обнаруживаются 14 аминокислот, в отдельной их фракции — 16 аминокислот.

3. Белки опухолей и слизистой оболочки желудка значительным образом не отличаются также по содержанию отдельных аминокислот.

Институт биохимии
АН АрмССР

Поступило 16.VII 1965 г.

Մ. Ն. ՔԱԼԻՊՅԱՆ

ՍՏԱՄՈՒՔԱՆ ԲՈՒԿՏԵՂԻ ԼՈՒՍՆԵՆ ԿՐԻՏԱԿՈՆՑԵՆՆԵՐ ԵՎ ՆԲԱՆՅ ԱՌԱՆՁԻՆ
ՅԵՐԱԿՅԵԱՅԵ ԱՄԵՆՈՒԹՅՈՒՆԻՆ ԿԱԶՄԸ

Ս. մ փ ո ւ փ ո ս յ

Շնտադրատվյան համար վերցվել են մարդու ստամոքսի բազզկեպային հյուսվածքը և ուռուցքից հեռու գտնվող յորձաթաղանթի հյուսվածքները: Սպիտակուցների էքստրակցիան կատարվել է կերակրի աղի ֆիզիոլոգիական լուծույթով: Ուռուցքային հյուսվածքի էքստրակտում պարունակվում են մոտ 40% ալկալի սպիտակուցներ, բան յորձաթաղանթի հյուսվածքում: Պարզվել է նաև, որ ուռուցքի հյուսվածքարանձական տեսակը անդրադառնում է նրանում սպիտակուցների բանակի պարունակության վրա:

Թզթի վրա խրոմատոգրաֆիական եղանակի օգնությամբ որոշվել է ուռուցքի և յորձաթաղանթի հյուսվածքի լուծելի սպիտակուցների, ինչպես նաև նրանց առանձին ֆրակցիայի (որն ստացված է նրանց էլեկտրոֆորեսիկ եղանակով բաժանման միջոցով) ամինոթիվալին կազմը: Պարզվել է, որ երկու դեպքում էլ, համեմատած ստամոքսի յորձաթաղանթի համապատասխան սպիտակուցների հետ, ամինոթիվալին կազմում որակական փոփոխությունները բացակայում են: Քանակական որոշման արդյունքները ցույց են տվել, որ միայն որոշ

*ամփոփությունը ուսուցչային հյուսվածքի սպիտակուցներում աննշան չափով
ավելի են պարունակվում, քան յորձաթղանի սպիտակուցներում:*

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Կարմիրյան Մ. Вопросы онкологии, I, 59, 1963.
2. Serafino M. Med. Acad. chirurgie, 76, 465, 1950.
3. Masamune H., Yosizawa Z., Masukawa A., Oh-Ito K., Matsuda Y. Tohoku J. Exp. Med., 56, 37, 1952.
4. Matsuda Y. Tohoku J. Exp. Med., 54, 1, 1951.
5. Masukawa A. Tohoku J. Exp. Med., 58, 251, 1953.
6. Masukawa A. Tohoku J. Exp. Med., 58, 261, 1953.
7. Masukawa A. Tohoku J. Exp. Med., 58, 271, 1953.
8. Chiba H., Ishikawa S. Tohoku J. Exp. Med., 61, 189, 1955.
9. Chiba H., Ishikawa S. Tohoku J. Exp. Med., 61, 223, 1955.
10. Merlevede E., Pottier F., Verheille., 2-e Collog. St. Jans. Hosp. Brugge, 45, 1954.
11. Samberlich H., Baumann. Cancer Res. II, 67, 1951.