

Г. Я. ВИДЕРШАЙН, Е. Л. РОЗЕНФЕЛЬД, А. И. БРУСИЛОВСКИЙ, Л. Г. КОЛИБАБА

О НЕКОТОРЫХ ГЛИКОЗИДАЗАХ ПЛАЦЕНТЫ ЧЕЛОВЕКА

(Представлено академиком С. Е. Севериным 10 XI 1970)

Показано, что отсутствие или снижение активности какой-либо гликозидазы приводит к серьезным нарушениям в организме человека. Так, например, при развитии генерализованного ганглиозидоза в печени и мозгу отсутствует β -галактозидаза (¹). Возникновение ряда наследственных заболеваний человека — фукозидаза и маннозидаза связывают с дефицитом в различных органах соответственно α -L-фукозидазы и α -D-маннозидазы (²).

Приведенные факты свидетельствуют о необходимости детального изучения особенностей различных гликозидаз в организме человека. Такие данные в литературе отсутствуют.

Целью настоящей работы явилось изучение изменений активности α -L-фукозидазы, β -D-галактозидазы, α -D-галактозидазы и α -D-маннозидазы в плаценте человека на последовательных стадиях эмбриогенеза.

Для получения ферментных препаратов использовали плаценту (71 объект) плода человека, полученную при медицинском прерывании нормальной беременности на разных сроках (от 5 до 25 недель) и плаценту после нормальных родов.

1 г ткани из каждого образца плаценты измельчали и гомогенизировали на холоду в течение 1 мин. с 3 мл 0,05 N ацетатного буфера pH 5,5 в гомогенизаторе Поттера с тефлоновым пестиком. Обрывки ткани удаляли при центрифугировании, а полученный супернатант использовали в качестве ферментных препаратов для определения активности исследованных ферментов. Об активности гликозидаз судили по количеству *n*-нитрофенола, выделяющегося при ферментативном расщеплении соответствующих субстратов. За единицу активности гликозидаз принимали количество соответствующего фермента, которое в стандартных условиях опыта вызывает увеличение оптической плотности при λ 410 м μ на 0,01 за 1 мин. Удельную активность препаратов характеризовали количеством единиц, отнесенных к 1 мг белка.

Инкубационные пробы (конечный объем 0,25 мл) содержали 0,15 мл ферментного препарата и 0,1 мл соответствующего субстрата (конечная концентрация 1 мМ), разведенного в 0,05 N ацетатном буфере pH 5,5. Ферментативную реакцию останавливали 2,5% ZnSO₄ (0,1 мл) и 0,15 N NaOH (0,1 мл). Осадок удаляли центрифугированием, а супернатант (0,25 мл) из каждой пробы добавляли к 0,25 мл раствора 0,4 M глицин-NaOH буфера (pH 10,5). Окрашенные пробы колориметрировали на спектрофотометре с СФ-4А при λ 410 м μ в микрокуветах ($l = 1$ см), используя предложенную нами диафрагму (³).

Содержание белка в пробах определяли по методу Лоури и др. (⁴), применяя в качестве стандарта бычий сывороточный альбумин.

Измерение pH растворов проводили на потенциометре ЛПУ-01 со стеклянным электродом, точность измерения $\pm 0,05$.

Результаты исследований обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики, а достоверность различий между средними ариф-

Таблица 1

Удельные активности α -L-фукозиды, α -D-маннозиды, β -D-галактозиды и α -D-галактозиды в плаценте человека на последовательных стадиях внутриутробного развития

Объект исследования	α -L-фукозиды		α -D-маннозиды		β -D-галактозиды		α -D-галактозиды	
	$M \pm m$	σ	$M \pm m$	σ	$M \pm m$	σ	$M \pm m$	σ
Хорион 5—6 недель	$32,8 \pm 2,8$	$\pm 5,6$	$2,14 \pm 0,42$	$\pm 0,83$	$4,2 \pm 0,50$	$\pm 0,99$	$0,19 \pm 0,015$	$\pm 0,033$
Хорион 7—8 недель	$32,3 \pm 2,3$	$\pm 9,5$	$2,59 \pm 0,20$	$\pm 0,81$	$6,9 \pm 0,49$	$\pm 1,08$	$0,20 \pm 0,022$	$\pm 0,063$
Хорион 9—10 недель	$33,1 \pm 2,3$	$\pm 9,6$	$2,73 \pm 0,21$	$\pm 0,91$	$7,2 \pm 0,47$	$\pm 1,98$	$0,18 \pm 0,014$	$\pm 0,055$
Хорион 11—12 недель	$35,3 \pm 3,4$	$\pm 12,1$	$3,32 \pm 0,20$	$\pm 0,74$	$9,3 \pm 0,97$	$\pm 3,64$	$0,22 \pm 0,024$	$\pm 0,089$
Плацента 13—15 недель	$29,7 \pm 3,3$	$\pm 8,4$	$3,21 \pm 0,33$	$\pm 0,80$	$10,4 \pm 1,30$	$\pm 3,25$	$0,26 \pm 0,027$	$\pm 0,067$
Плацента 18—25 недель	$45,0 \pm 0,75$	$\pm 1,28$	$2,28 \pm 0,17$	$\pm 0,30$	$5,3 \pm 0,74$	$\pm 1,28$	$0,15 \pm 0,014$	$\pm 0,024$
Плацента 40 недель	$6,8 \pm 0,89$	$\pm 2,66$	$1,71 \pm 0,30$	$\pm 0,79$	$1,42 \pm 0,16$	$\pm 0,44$	$0,05 \pm 0,006$	$\pm 0,017$

Примечание. M — среднее арифметическое значение, m — средняя арифметическая ошибка средней арифметической величины, σ — средняя квадратическая ошибка средней арифметической величины.

метическими величинами проверялась по формуле:

$$M_1 - M_2 \geq 3 \sqrt{m_1^2 + m_2^2}$$

В табл. 1 представлены данные по удельной активности α -L-фукозидазы α -D-маннозидазы, β -D-галактозидазы и α -D-галактозидазы в плаценте плода человека на последовательных стадиях внутриутробного развития. Как видно из приведенных данных (табл. 1), активность α -L-фукозидазы в плаценте имеет примерно одинаковое значение при сроках беременности от 5 до 10 недель статистически достоверное. Уменьшение активности происходит в возрасте 13—15 недель, в возрасте 18—25 недель оно выражено более значительно.

Повышение удельной активности α -D-маннозидазы в 11—12 недель (табл. 1) происходит достоверно по сравнению с 5—10 неделями, в 40 недель активность α -D-маннозидазы достоверно уменьшается.

Удельная активность β -D-галактозидазы достоверно увеличивается в 7—8 недель по сравнению с 5 неделями и остается на таком же уровне до 12 недель. В 13—15 недель активность достоверно увеличивается по сравнению с 9—10 неделями, а в 18—25 недель значительно понижается. Еще более выраженное уменьшение активности по сравнению со всеми более ранними сроками отмечено в плаценте 40 недель.

При анализе значения удельной активности α -D-галактозидазы показано, что статистически достоверно уменьшение активности в 18—25 и 40 недель.

Таким образом, как показали наши исследования, в плаценте человека уже в возрасте 5—7 недель обнаруживается активность следующих гликозидаз: α -L-фукозидазы, α -D-маннозидазы, β -D-галактозидазы и α -D-галактозидазы. Активность этих ферментов увеличивается в плаценте к 11—12 неделям (исключение составляет только α -D-галактозидаза) и значительно снижается к концу беременности. Обращает на себя внимание тот факт, что наибольшая активность гликозидаз совпадает с морфо-функциональным созреванием плаценты как органа со сложными и многообразными функциями именно к концу 12 недели беременности (8).

Полученные нами данные относительно высокой активности в плаценте α -L-фукозидазы и других гликозидаз могут иметь определенное значение для диагностики различных мукополисахаридозов. Считается, что эти заболевания являются врожденными и возникают в связи с отсутствием гена, контролирующего образование определенной гликозидазы (2). Диагностика мукополисахаридозов возможна обычно после взятия биопсии из различных органов, что довольно сложно, в особенности при исследовании детей. Так как ткань плаценты (ее плодовая часть) является тканью плода, то исследование в ней активности гликозидаз может помочь при диагностике мукополисахаридозов сразу же после рождения ребенка.

Институт биологической и медицинской химии
Академии медицинских наук СССР
Москва

Поступило
6 XI 1970

Крымский государственный медицинский институт
Симферополь

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ K. Suzuki, Science, 159, 1471 (1968). ² F. Van Hoof, H. G. Hers, Europ. J. Biochem., 7, 34 (1968). ³ Г. Я. Видершайн, Л. Г. Колибаба, Вопр. мед. хим., 17, 3 (1971). ⁴ O. H. Lowry, N. J. Rosenbrough et al., J. Biol. Chem., 193, 265 (1951). ⁵ А. Г. Кнорре, Краткий очерк эмбриологии человека с элементами сравнительной, экспериментальной и патологической эмбриологии, 2-е изд., Л., 1967.