

Э. В. ДЯТЛОВИЦКАЯ, У. МОРГЕНРОТ, А. М. НОВИКОВ, В. П. МАЛЬКОВА,
член-корреспондент АН СССР Л. Д. БЕРГЕЛЬСОН

ГАНГЛИОЗИДЫ РЕГЕНЕРИРУЮЩЕЙ ПЕЧЕНИ КРЫС

В последнее время было показано, что ганглиозиды злокачественных клеток обладают рядом особенностей по сравнению с нормой (см. обзор ⁽¹⁾) и что такие характерные для злокачественного развития явления, как отсутствие контактного ингибирования, меньшая адгезивность клеток и т. д., связаны с изменениями ганглиозидов. Нами было найдено ⁽²⁻⁵⁾, что ганглиозиды гепатомы 27 крыс по составу и структуре значительно отличаются от сиалогликолипидов печени крыс: в гепатоме увеличивается общее содержание ганглиозидов, изменяется их внутриклеточная локализация, появляется дисиализилганглиозид, отсутствующий в норме.

Представляло интерес выяснить, отражают ли эти изменения особенности злокачественного развития или они присущи быстрому росту вообще. С этой целью в настоящей работе изучен состав и содержание ганглиозидов в нормальной быстро пролиферирующей ткани — регенерирующей печени крыс — на разных стадиях клеточного цикла (18, 24 и 48 час. после гепатэктомии).

Для исследования использовали печень крыс-самцов весом 180—200 г. Гепатэктомию проводили по методу Хиггинса и Андерсона ⁽⁶⁾. Митохондрии и микросомы выделяли методом дифференциального центрифугирования как указано ранее ⁽⁷⁾. Частоту субклеточных фракций контролировали определением активности маркерных ферментов: сукцинатдегидрогеназы ⁽⁸⁾, холестеринэстеразы ⁽⁹⁾, 5'-нуклеотидазы ⁽¹⁰⁾, β -галактозидазы ⁽¹¹⁾. Выделение и очистку ганглиозидов и определение общих и липидносвязанных сиаловых кислот проводили как указано ранее ^(2, 3). Разделение, идентификацию и количественное определение ганглиозидных компонентов осуществляли с помощью тонкослойной хроматографии по методикам, описанным ранее ^(2, 3).

Как видно из табл. 1, содержание общих и липидносвязанных сиаловых кислот в регенерирующей печени крыс понижается по сравнению с контролем; максимальное отклонение от нормы наблюдается через 24 часа после гепатэктомии. В качественном составе ганглиозидов регенератов и нормальной печени различий не обнаружено (табл. 1). При тонкослойной хроматографии сиалогликолипидов на силикагеле в системе хлороформ — метанол — 2,5 *N* аммиак (60:35:8) были идентифицированы пять фракций: гематозид G_m , *N*-гликолилгематозид, моносиализилганглиозид G_m , дисиализилганглиозид $G_{D_{1a}}$ и трисиализилганглиозид G_t . Относительное содержание каждого компонента в сумме ганглиозидов оставалось почти постоянным на всех стадиях регенерации. Заметным отклонением от нормы было повышение в регенерирующей печени содержания трисиализилганглиозида и уменьшение количества гематозида (табл. 1).

Как известно, в печени основное количество ганглиозидов локализовано в плазматической мембране ^(13, 14). Было показано, что в гепатоме 27 внутриклеточные мембраны также богаты ганглиозидами ⁽⁴⁾. Поэтому было интересно выяснить, как изменяется ганглиозидный состав внутриклеточных мембран регенерирующей печени в момент максимального отклонения от нормы (через 24 часа после гепатэктомии). Содержание об-

* Обозначения ганглиозидов даны по Свеннерхольму ⁽¹²⁾.

Таблица 1

Содержание общих и липидносвязанных сиаловых кислот (в нмол. на 1 мг белка) * и ганглиозидов (% от суммы) в регенерирующей печени крыс

Время регенерации, час.	Общие сиаловые кислоты	Липидносвязанные сиаловые кислоты	Ганглиозиды				
			гематозид G_{M_3}	N-гликолилгематозид	моносиалозилганглиозид G_{M_1}	дисиалозилганглиозид $G_{D_{1a}}$	трисиалозилганглиозид G_T
0	$9,4 \pm 0,3$	$0,76 \pm 0,05$	52 ± 4	5 ± 1	11 ± 2	14 ± 2	18 ± 2
18	$6,7 \pm 0,8$	$0,47 \pm 0,07$	48 ± 4	3 ± 1	11 ± 1	13 ± 2	25 ± 2
24	$6,9 \pm 0,6$	$0,42 \pm 0,04$	46 ± 3	6 ± 1	11 ± 2	13 ± 1	24 ± 3
48	$7,4 \pm 0,9$	$0,51 \pm 0,05$	46 ± 4	—	12 ± 2	16 ± 2	26 ± 3

* Здесь и в табл. 2 приведены средние значения из трех опытов.

Таблица 2

Содержание ганглиозидов в митохондриях и микросомах 24-часового регенерата печени крыс (в % от суммы)

Ганглиозиды	Время регенерации, час.			
	0		24	
	митохондрии	микросомы	митохондрии	микросомы
Гематозид G_{M_3}	64 ± 3	50 ± 3	55 ± 3	45 ± 1
N-Гликолилгематозид	4 ± 1	6 ± 1	5 ± 1	6 ± 1
Моносиалозилганглиозид G_{M_1}	8 ± 1	20 ± 1	10 ± 1	20 ± 1
Дисиалозилганглиозид $G_{D_{1a}}$	11 ± 2	13 ± 2	20 ± 1	16 ± 1
Трисиалозилганглиозиды G_T	13 ± 1	11 ± 1	10 ± 1	13 ± 2

щих сиаловых кислот в митохондриях 24-часового регенерата значительно выше ($9,6 \pm 0,9$ нмоль на 1 мг белка), а в микросомах ниже ($5,8$ нмоль на 1 мг белка) уровня общих сиаловых кислот в соответствующих субклеточных фракциях нормальной печени ($6,2 \pm 1,1$ и $13,0 \pm 2,7$ нмоль на 1 мг белка соответственно). Однако содержание липидносвязанных сиаловых кислот в обеих указанных мембранных фракциях регенерирующей печени было одинаковым ($0,42 \pm 0,05$ нмоль на 1 мг белка; в норме $0,40 \pm 0,04$ для митохондрий и $0,80 \pm 0,05$ для микросом). При этом количество ганглиозидов в митохондриях регенерата соответствовало их содержанию в митохондриях нормальной печени, а в микросомах оно значительно ниже, чем в норме.

Как видно из табл. 2, по содержанию индивидуальных компонентов ганглиозидов митохондрии и микросомы регенерирующей печени отличаются друг от друга в основном количеством гематозида и моносиалозилганглиозида. Трисиалозилганглиозид, содержание которого в целой клетке достигает 25% от суммы сиалогликолипидов (табл. 1), в митохондриях и микросомах составляет всего 10–13%. Это является указанием на то, что при регенерации трисиалозилганглиозид локализован преимущественно в плазматических мембранах. Данные табл. 2 свидетельствуют также о том, что особенности состава ганглиозидов митохондрий и микросом печени сохраняются при регенерации: относительное содержание индиви-

Изменения содержания ганглиозидов в регенерирующей печени крыс и в гепатоме 27 (по сравнению с нормальной печенью)

	Регенерат	Гепатома
Ганглиозиды	Уменьшение	Возрастание
Трисиалозилганглиозиды G _T	Возрастание	Исчезновение
Ганглиозиды митохондрий	Не изменяется	Возрастает в 6 раз
Ганглиозиды микросом	Уменьшается в 2 раза	Возрастает в 3 раза

дуальных сialogликолипидов в митохондриях и микросомах 24-часового регенерата и в соответствующих субклеточных фракциях нормальной печени приблизительно одинаково.

В целом полученные данные указывают на то, что при регенерации либо ослаблен биосинтез сialogликолипидов, либо усиливается их катаболизм по сравнению с нормальной печенью. По имеющимся литературным данным (¹⁵), в регенерирующей печени крыс увеличена активность нейраминидазы, причем наивысшая активность наблюдается через 24 часа после гепатэктомии. Это свидетельствует об ускорении процесса катаболизма ганглиозидов. Нельзя, однако, исключить возможность того, что активность сиалилтрансфераз, участвующих в биосинтезе ганглиозидов, также может возрасть при регенерации. В конечном итоге количество ганглиозидов в клетке зависит от относительной активности обеих ферментных систем.

Результаты настоящей работы позволяют провести сравнение ганглиозидов регенерирующей печени и гепатомы 27 крыс (²⁻⁴). Как видно из табл. 3, отклонения от нормы, наблюдаемые в регенерирующей печени и в гепатоме, по ряду параметров прямо противоположны. В то время как в гепатоме и в ряде других опухолей (²) содержание липидносвязанных сиаловых кислот по сравнению с нормой возрастает, в быстро пролиферирующей ткани регенерирующей печени оно значительно уменьшается. Далее, в опухолях и в клетках, трансформированных вирусами, обычно отсутствует трисиалозилганглиозид (¹); в регенератах его содержание значительно увеличивается. Эти и другие приведенные в табл. 3 отличия позволяют сделать вывод о том, что особенности ганглиозидного состава гепатом обусловлены не быстрым ростом как таковым, а связаны с процессом малигнизации.

Институт биоорганической химии
им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР
Москва

Поступило
11 V 1975

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. O. Brady, P. H. Fishman, *Biochim. biophys. acta*, v. 355, 121 (1974).
- ² Э. В. Дятловицкая, А. М. Новиков, Л. Д. Бергельсон, ДАН, т. 197, 966 (1971).
- ³ Э. В. Дятловицкая, А. М. Новиков, Л. Д. Бергельсон, *Биохимия*, т. 39, 552 (1974).
- ⁴ Э. В. Дятловицкая, А. М. Новиков и др., ДАН, т. 217, 969 (1975).
- ⁵ Э. В. Дятловицкая, А. М. Новиков, Тез. докл. III Всесоюз. биохимич. съезда, 1974, стр. 175 (1975).
- ⁶ G. N. Higgins, R. M. Anderson, *Arch. Pathol.*, v. 12, 186 (1931).
- ⁷ L. D. Bergelson, E. V. Dyatlovitskaya et al., *Biochim. biophys. acta*, v. 210, 287 (1970).
- ⁸ E. C. Slater, W. D. Bonner, *Biochem. J.*, v. 52, 185 (1952).
- ⁹ Г. А. Попкова, Н. П. Горькова и др., ДАН, т. 207, 232 (1972).
- ¹⁰ P. Emmelot, C. J. Bos et al., *Biochim. biophys. acta*, v. 90, 126 (1964).
- ¹¹ R. J. Shamberger, *Biochem. J.*, v. 111, 375 (1969).
- ¹² L. Svennerholm, *J. Neurochem.*, v. 10, 613 (1963).
- ¹³ H. D. Klenk, P. W. Choppin, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, v. 66, 57 (1970).
- ¹⁴ C. L. Schengrund, D. S. Jensen, *J. Biol. Chem.*, v. 247, 2742 (1972).
- ¹⁵ Т. И. Валякина, Н. В. Васильева и др., *Биохимия*, т. 40, № 4 (1975).