

ПРО ОСОБЛИВОСТІ ОБМІНУ ФОСФОЛІПІДІВ ПРИ ФЕНІЛКЕТОНУРІЇ

Л. О. Булахова, І. І. Черницька

Кафедра психіатрії Київського інституту удосконалення лікарів

В походженні тяжкого слабоумства при фенілкетонурії (ФКУ) поряд з головними біохімічними порушеннями обміну феніланіну, можуть мати значення вторинні метаболічні розлади. На основі окремих, хоч би й суперечливих патологоанатомічних відомостей, а також даних деяких посмертних патохімічних досліджень речовини мозку [11, 12, 14, 18], можна припустити порушення у ліпідному обміні при ФКУ, який досі ще не вивчений.

Беручи до уваги особливо важливу структурну та функціональну роль фосфоліпідів (ФЛ) у життєдіяльності мозку, ми провели дослідження вмісту загальних фосфоліпідів (ЗФЛ) та їх окремих фракцій у сироватці крові та спинномозковій рідині хворих на ФКУ.

Методика досліджень

ФЛ екстрагували з 1 мл сироватки крові за методом Фолча та ін. [13] у модифікації Маринетті та ін. [17]. Екстракція ФЛ із 5 мл спинномозкової рідини провадилася за методом Карагезяна [7], що являє собою модифікацію методу Маринетті [16], доповненого Смирновим та ін. [10]. Розподіл ФЛ як у крові, так і у спинномозковій рідині, проводили за допомогою тонкошарової хроматографії [2] на силікагелі марки КСК вітчизняного виробництва (див. рисунок). Хроматограму проявляли у парі йоду. Ідентифікацію окремих фракцій ФЛ починали з лецитину, користуючись при цьому даними літератури про порядок розташування фосфоліпідних фракцій [2, 7, 9] та хімічними реакціями. Кількісне визначення ФЛ проводили за фосфором (Ф) без попередньої елюції з силікагелю [22, 19].

У сироватці крові нам удавалося виділити такі ФЛ: лізолецитини (ЛЛ), моноінозитфосфатиди (МІФ), сфінгомеліни (СФМ), лецитини (Л), серинфосфатиди (СФ) і кефаліни (К). У спинномозковій рідині визначали ті ж самі фракції, але замість ЛЛ виділяли фракцію діінозитфосфатидів (ДІФ) та додаткову фракцію полігліцерофосфатидів (ПГФ), яка відсутня в крові.

Дослідження провадилися натще. Визначення ФЛ у крові ліктьової вени проведено у 71 хворого віком від 1 до 18 років, у спинномозковій рідині — у 37 з них. У 16 з цих пацієнтів досліджували також кров з яремної вени та сонної артерії, що брали одночасно. У 30 хворих ФЛ вивчали у процесі дієтичного лікування з різким обмеженням феніланіну. Для контролю було досліджено ФЛ крові 20 здорових людей, а також 20 мл спинномозкової рідини, яку було зібрано під час спинномозкової анестезії у 9 оперованих з приводу гінекологічних захворювань (міома, киста яєчника).

Слід відзначити, що результати нашого дослідження фосфоліпідного складу спинномозкової рідини у осіб без захворювань нервової системи лише незначно відрізняються від даних Карагезяна, одержаних на собаках за звичайних умов [7], а співвідношення ФЛ фракцій в ній відповідає даним літератури про процентний вміст індивідуальних ФЛ у здорових [21, 23].

Оскільки істотних відмінностей за віком у вмісті загальних та індивідуальних ФЛ ми не виявили, аналізуючи одержані дані, ми проводили порівняння лише з тяжкістю клінічної картини, головним чином, з глибиною психічного дефекту. У І групу увійшли 39 хворих з глибоким слабоумством (в ступені ідіотії та глибокої імбецильності), у ІІ — 19 хворих з тяжким слабоумством (у ступені вираженої імбецильності), у ІІІ групу — 13 хворих з легким і помірним слабоумством (у ступені дебільності та легкої імбецильності).

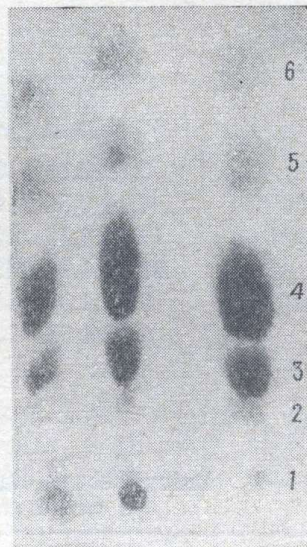
Результати досліджень

Одержані при дослідженні дані про вміст $\Phi\text{Л}$ у периферичній венозній крові наведені у табл. 1 по трьох основних групах відповідно глибокій, тяжкій, легкій та помірній ступеням слабоумства. Лише у найбільш тяжких хворих I групи встановлено середній показник $З\Phi\text{Л}$ у сироватці крові ($7,2 \pm 0,3 \text{ мг\% } \Phi$), який виявився трохи вищим у порівнянні з контрольною групою здорових ($6,6 \pm 0,25 \text{ мг\% } \Phi$), хоч і ця різниця нижче рівня статистичної вірогідності ($P > 0,1$). У I групі відзначено статистично вірогідне підвищення $М\text{І}\Phi$. У інших групах середні показники $М\text{І}\Phi$ істотно не відрізнялися від контрольних, хоч у окремих хворих II групи все ж були значно підвищені, $С\Phi\text{М}$ і $С\Phi$ визначали як у зниженій, так і у підвищеній кількості, однак середні показники їх виявилися дещо підвищеними у I та II групах.

Найбільш закономірно у крові всіх хворих на $\Phi\text{КУ}$ спостерігалася зниження вмісту Л і під-

Тонкошарова хроматограма фосфоліпідів сироватки крові хворих на фенілкетонурію (ліва та середня колонки) і здорової особи (права колонка).

1 — лізолецитини; 2 — моноінозитрофосфати; 3 — сфінгомеліни; 4 — лецитини; 5 — серинфосфати; 6 — кефаліни.



вищення K , тим більш виражене, чим тяжчі клінічні прояви захворювання. Процентний вміст Л у окремих хворих знижувався до 30% замість 60,8% у нормі, а K підвищувався до 24—30% замість нормального вмісту — 6,3%. У хворих III групи з легким та помірним слабоумством ці зміни були виражені нерізно і статистично невірогідно.

Середні показники вмісту $З\Phi\text{Л}$ у спинномозковій рідині наведені у табл. 2 по тих же групах відповідно тяжкості захворювання. У хворих I групи він виявився дещо нижчим, ніж у II і III групах, хоч ця відмінність не досягала рівня статистичної вірогідності. Слід відзначити, однак, що саме в цій групі спостерігалася найбільша межа коливань показників: від 30 $\text{мкг\%}$ до 178 $\text{мкг\%}$ ($M \pm m \pm 62,84 \pm 9,3 \text{ мкг\%}$). Найбільш стабільними були показники вмісту $З\Phi\text{Л}$ у лікворі хворих III групи ($70,6 \pm 2,10 \text{ мкг\%}$).

Основні зрушення у співвідношенні $\Phi\text{Л}$ фракцій у спинномозковій рідині більшості хворих так само, як і в крові, стосувалися, головним чином, зниження Л , підвищення K , що виражалося у підвищенні $K/\text{Л}$ коефіцієнта до 0,20 у I групі, 0,16 у II групі і 0,08 у III групі при 0,05 у контрольному лікворі. Середні показники $С\Phi\text{М}$ і $С\Phi$ були дещо підвищеними, але відповідності з тяжкістю захворювання не спостерігалася.

Результати порівняльного дослідження $\Phi\text{Л}$ у венозній та артеріальній крові, наведені у табл. 3, показують цілком певну тенденцію в обміні $З\Phi\text{Л}$, яка виявляється у позитивній артеріо-венозній різниці. У всіх випадках, крім трьох, приплив $\Phi\text{Л}$ до органів (мозку, кінцівок) приблизно на 25% перевищував відтікання їх з венозною кров'ю. Але якщо у крові ліктьової вени співвідношення індивідуальних $\Phi\text{Л}$ істотно не відрізнялося від спостережуваного в артеріальній крові, то у крові, відтікаючій від мозку, помітні відмінності у вмісті окремих $\Phi\text{Л}$ фракцій: $С\Phi\text{М}$, K знижувалися як у абсолютному, так і в процентному виразі, процентний

Таблиця 1

Вміст фосфоліпідів у сироватці крові хворих на фенілкетонурію з глибоким (І група), тяжким (ІІ), легким та помірним (ІІІ) слабоумством у порівнянні зі здоровими

Досліджувані показники	Здорові	Ф К У					
		І		ІІ		ІІІ	
	<i>n</i> =15	<i>n</i> =39	<i>p</i>	<i>n</i> =19	<i>p</i>	<i>n</i> =13	<i>p</i>

ЗФЛ

в мг% Ф 6,6±0,25 7,2±0,3 >0,1 6,6±0,4 — 6,4±0,2 >0,5

Процентний вміст фосфоліпідних фракцій від ЗФЛ

ЛЛ	6,7±0,31	5,2±1,04	>0,1	5,3±1,29	>0,2	6,3±0,9	>0,1
МІФ	4,0±0,56	8,4±1,3	<0,01	5,0±1,43	>0,5	4,8±0,81	>0,3
СФМ	12,5±1,16	15,5±1,33	>0,1	16,1±1,54	>0,1	13,6±1,7	>0,5
Л	60,8±1,9	45,1±2,1	<0,001	44,9±2,7	<0,001	57,7±2,6	>0,3
СФ	9,7±1,37	11,9±0,97	>0,1	15,6±2,2	<0,02	8,6±1,27	>0,5
К	6,3±1,66	13,9±0,88	<0,001	13,1±1,22	<0,002	9,0±1,1	>0,2
К/Л	0,11	0,30		0,29		0,16	

Таблиця 2

Вміст фосфоліпідів у спинномозковій рідині хворих на фенілкетонурію з глибоким (І), тяжким (ІІ), помірним слабоумством (ІІІ)

Досліджувані показники	Контроль	Ф К У				
		І	ІІ		ІІІ	
	<i>n</i> =20	<i>n</i> =19	<i>n</i> =10	<i>P</i> ₁	<i>n</i> =8	<i>P</i> ₂

ЗФЛ

в мкг% Ф 61,8 62,84±9,3 74,3 ±7,3 >0,4 70,6±2,1 >0,5

Процентний вміст фосфоліпідних фракцій від ЗФЛ

МІФ і ДІФ	15,3	13,81±1,75	12,91±4,0	>0,3	13,9±2,96	>0,5
СФМ	17,4	19,5 ±1,32	19,0 ±1,5	>0,5	18,6±4,4	>0,5
Л	56,9	47,2 ±4,0	50,6 ±4,9	>0,5	53,5±1,48	>0,2
СФ	5,93	7,1 ±1,5	6,8 ±1,7	>0,5	6,3±0,92	<0,5
К	2,75	9,6 ±1,6	8,2 ±1,2	>0,5	4,5±0,62	0,01
ПГФ	1,7	2,8 ±0,7	2,5 ±0,86	>0,5	3,2±0,95	0,5
К/Л	0,05	0,20	0,16		0,08	

Примітка: *p*₁ — достовірність відмінностей показників у І і ІІ групах; *p*₂ — достовірність відмінностей показників у І та ІІІ групах.

же вміст *Л* підвищувався на 5,5% (10% від вмісту їх в артеріальній крові), а *МІФ* на 1,6% (30% від їх кількості в артеріальній крові), хоч абсолютні показники змінювалися незначно.

Аналізуючи 120 хроматограм фосфоліпідів крові хворих, проведених під час дієтичного лікування, вже на другому і третьому тижні можна було відзначити чітку тенденцію до нормалізації співвідношення ФЛ фракцій. *К* знижувалися вже при рівні фенілаланіну крові 12—15 мг%, але *Л* залишалися все ще на низькому рівні. Найбільш близькі до нормальних співвідношення фракцій встановлені при рівні фенілаланіну крові 3,5—8 мг%.

Т а б л и ц я 3

Вміст фосфоліпідів у сироватці венозної крові (яремної вени та ліктьової) у порівнянні з артеріальною у хворих на фенілкетонурію ($n=16$)

Фосфоліпіди	Яремна вена	Сонна артерія		Ліктьова вена	
	$M \pm m$	$M \pm m$	p	$M \pm m$	p
ЗФЛ в мг% Ф	$6,7 \pm 0,25$	$8,66 \pm 0,64$	$<0,01$	$6,38 \pm 0,16$	$<0,01$
Процентний вміст фосфоліпідних фракцій від ЗФЛ					
ЛЛ	$4,9 \pm 0,62$	$5,4 \pm 0,45$	$>0,5$	$6,2 \pm 0,61$	$>0,2$
МІФ	$6,9 \pm 0,57$	$5,3 \pm 0,37$	$<0,5$	$6,1 \pm 0,67$	$>0,3$
СФМ	$12,8 \pm 1,22$	$15,3 \pm 1,25$	$>0,1$	$16,1 \pm 1,44$	$>0,5$
Л	$55,6 \pm 1,36$	$50,0 \pm 1,15$	$<0,01$	$49,7 \pm 1,46$	$>1,0$
СФ	$9,2 \pm 0,84$	$10,0 \pm 1,14$	$>0,3$	$10,4 \pm 1,22$	$>0,6$
К	$10,6 \pm 1,21$	$13,4 \pm 1,2$	$>0,1$	$11,5 \pm 1,48$	$>0,3$
К/Л	0,19	0,27		0,23	

Повторні дослідження складу ФЛ у спинномозковій рідині, проведені у 15 хворих через 1—2 місяці від початку лікування, показали також чітке зниження вмісту К та СФ, у деяких хворих МІФ та ДІФ при збільшенні Л у 14 хворих.

Обговорення результатів досліджень

Порівняння вмісту окремих ФЛ, виявлені при дослідженні крові та спинномозкової рідини, дає підставу говорити про паралелізм основних змін у більшості хворих на ФКУ: збільшення К та зменшення Л, які корелюють з тяжкістю клінічних проявів захворювання. Підвищення СФМ, СФ носить менш стійкий характер і стосується, головним чином, вмісту їх у крові.

Головні зміни у вмісті ФЛ фракцій крові можна розцінювати або як результат недостатності синтезу Л та пов'язаного з ним дефекту у використанні інших ФЛ, особливо К, або як наслідок посиленого розпаду Л і підвищеного синтезу К та почасти інших ФЛ. На користь останнього припущення, нам здається, свідчить підвищення абсолютного вмісту ФЛ в артеріальній крові. Можна навіть припустити компенсаторно підвищений синтез ФЛ у печінці у відповідь на високе використання в органах, про що свідчить позитивна артеріо-венозна різниця у вмісті ЗФЛ, яку було виявлено у більшості наших досліджень. Враховуючи дані про відсутність церебральної артеріо-венозної різниці у вмісті ФЛ при звичайному функціонуванні мозку або навіть незначної негативної їх різниці [1, 6, 20] — позитивна артеріо-венозна різниця у наших хворих була для нас несподіваною. Подібне явище описано при експериментальному гальмівному стані мозку [3, 4], а також у стані інсулінової гіпоглікемії собак [4, 5] та оцінюється як поглинання мозком ФЛ з артеріальної крові. Отже, у хворих на ФКУ ми зустрічаємось з особливим функціональним станом, коли виникає необхідність мобілізації ФЛ з крові у органах як будматеріалу, якого бракує, або додаткового джерела енергії. Якщо поглинання ФЛ у кінцівці відбувається рівномірно за рахунок усіх фракцій, цього не можна сказати про мозок. МІФ та Л не затримуються мозком, незважаючи на поглинання ним інших ФЛ.

Збільшення процентного вмісту K у лікворі у ряді демієлінізуючих захворювань, наприклад при розсіяному склерозі [15, 21, 23], дало підставу деяким авторам вважати цю особливість ознакою розпаду нервової тканини. Одержані нами дані не дають підстави вважати підвищення K ознакою демієлінізації, принаймні, у більшості хворих на ΦKU . Такому припущенню суперечить нормальний, а іноді й знижений вміст $3\Phi L$ у лікворі, відсутність підвищення у ньому інших так званих «мієлінових» фракцій: $C\Phi M$ та $C\Phi$, а також позитивна артеріо-венозна різниця цих фракцій, у тому числі й K . Скоріш за все, це відбиття функціональної патології метаболізму ΦL при ΦKU , яке полягає, напевно, у підвищеному та нерівномірному використанні деяких з них. Не виключено однак, що при недостатності компенсаторної функції печінки у поповненні ΦL , можуть використовуватися й ΦL багатої на них нервової тканини, тобто посилюватися катаболізм ліпопротеїдних комплексів, що нарешті, зтирає чітку межу між передбачуваними функціональними механізмами таких порушень та органічно ушкоджуючими у найбільш тяжких випадках захворювання або на певних етапах його перебігу.

Позитивна динаміка ΦL , нормалізація їх у крові та лікворі під час дієтичного лікування свідчить про вторинність виявлених змін у вмісті ΦL крові та ліквору при цьому захворюванні.

Література

1. Арутюнов Д. Н.— В сб.: Біохімічні дослідження в психіатрії, К., 1937, 30.
2. Биохимические методы исследования в клинике (справочник), М., 1969.
3. Карагезян К. Г.— В сб.: Труды Всес. конф. по нейрохимии, Ереван, 1963, 387.
4. Карагезян К. Г.— Доклады АН СССР, 1966, 170, 4, 985.
5. Карагезян К. Г.— Лаборат. дело, 1969, 1, 24.
6. Карагезян К. Г.— Биохимия, 1968, 33, 5, 937.
7. Карагезян К. Г.— Вопросы биохимии мозга, Ереван, 1967, 191.
8. Полищук И. А., Городкова Т. М., Черницкая И.— Журн. невропат. и психиат., 1972, 72, 12, 1828.
9. Прохорова М. И., Тупикова З. Н.— Большой практикум по углеводному и липидному обмену, Л., 1965.
10. Смирнов А. А., Чирковская Е. В., Манукян К. Г.— Биохимия, 1961, 26, 6, 1027.
11. Crome L.— In: Phenylketonuria and some other inborn errors of amino acid metabolism, Stuttgart, 1971, 245.
12. Cumings N., Grundt I., Yanagibara T.— J. Neurology, Neurosurg. Psychiat., 1968, 31, 334.
13. Folch I., Lees M., Stanley S.— J. biol. chem., 1957, 226, 497.
14. Foote I., Allen R., Agranoff B.— J. Lipid. Res., 1965, 6, 518.
15. Lou C., Matzke J.— Acta Neurol. Scand., 1965, 41, 445.
16. Marinetti G., Stottz E.— Biochim., biophys. Acta, 1965, 21, 168.
17. Marinetti G., Albert M., Ford et al.— Biochim. biophys., Acta, 1959, 36, 4.
18. Malamud N.— J. Neurochem. Exp. Neurology, 1966, 25, 385.
19. Robinson N., Phillips B.— Clin. Chim. Acta, 1963, 8, 385.
20. Schwarz H. et al.— Proc. Soc. exp. biol. Med., 1970, 135, 55.
21. Tourtellotte W., Hacrer A., Arbor A.— Arch. of Neurol., 1969, 20, 305.
22. Vicrot O.— Acta med. scand., 1964, 175, 443.
23. Zilka K., McArdie B.— J. of Medicine, 1963, 52, 79.

Надійшла до редакції
25.IV 1973 р.

ON PECULIARITIES OF PHOSPHOLIPID METABOLISM
UNDER PHENYLKETONURIA

L. A. Bulakhova, I. I. Chernitskaya

Department of Psychiatry, Advanced Training Institute for Doctors, Kiev

Summary

A study of phospholipids and phospholipid fractions in blood serum of 71 patients with phenylketonuria and in cerebrospinal fluid of 37 of them was performed by the thin-layer chromatography method. It revealed an increase in the content of cephalines and a decrease in the content of lecithins which is the more pronounced, the heavier clinical picture of the disease. Only in some patients with a heavy progressing course of the disease an increase is also observed in the content of serinphosphatides and sphingomyelins in the cerebrospinal fluid which is not proportional to such changes in blood. An excess is established in the content of total phospholipids in blood flowing to the brain in comparison with their content in blood of the jugular vein $25 \pm 4.8\%$ on the average at the expense of a great number of fractions, excluding lecithins and monoinositol phosphatids. Under a dietetic treatment with sharp limitation of phenyl alanine there comes normalization in the ratio of individual phospholipids of blood and cerebro-spinal fluid, that evidences for a secondary character of the found disturbances in the metabolism of phospholipids.