

Н. В. ЕЛЬЦИНА и И. Ф. СЕЙЦ

ДЫХАТЕЛЬНОЕ И ГЛИКОЛИТИЧЕСКОЕ ФОСФОРИЛИРОВАНИЕ В РАКОВОЙ КЛЕТКЕ

(Представлено академиком А. И. Опариным 1 II 1951)

Злокачественные новообразования, в отличие от нормальных покоящихся тканей, характеризуются интенсивными процессами белкового синтеза. В связи с этим особенный интерес представляет исследование процессов катаболической фазы обмена веществ, доставляющих клетке энергию для биохимических синтезов.

Давно известно ⁽¹⁾, что в злокачественных тканях, наряду с достаточно интенсивным дыханием, имеет место большой аэробный гликолиз. Характерный для большинства нормальных тканей и клеток пастеровский эффект, т. е. полное или почти полное подавление анакисбиотических процессов, резко нарушено в злокачественных опухолях. На основе данных, количественно характеризующих дыхание и гликолиз опухолевой ткани, а также из величин тепловых эффектов сгорания сахара до углекислоты и воды и расщепления его до молочной кислоты была рассчитана доля участия каждого из этих процессов в общем энергетическом балансе злокачественной клетки. Согласно этому подсчету, большую часть своей энергии — 65% — опухолевая клетка черпает из реакций окисления и лишь на 35% — из процесса гликолиза. Пользуясь этим же методом расчета, другие авторы ⁽²⁾ пришли к сходным выводам, считая, что до 85% всей энергии опухолевая клетка получает в результате окислительных реакций. Однако правильное представление об энергетике клетки эти подсчеты не дают.

За последнее время накопилось много данных, указывающих, что энергия катаболических процессов используется клеткой не непосредственно. Сопряженно с дыханием и гликолизом протекают процессы запасания химической энергии в форме лабильных, богатых энергией фосфорных соединений. Самый факт возникновения макроэргических соединений в процессе дыхания был впервые установлен в работах В. А. Энгельгардта ⁽³⁾. Им же была высказана мысль о химической конвергенции дыхания и брожения, осуществляющейся в синтезе аденозинтрифосфорной кислоты ⁽⁴⁾. Энергия катаболических процессов, аккумулированная в определенных материальных носителях в виде богатых энергией фосфорных соединений, используется клеткой для разнообразных синтезов и для осуществления тех или иных специфических для данной ткани функций.

В последнее время, однако, стали известны факты, когда при действии некоторых экзогенных для клетки веществ ⁽⁵⁾, а также при действии эндогенного «антипастеровского» фактора, обнаруженного во всех клетках и тканях ⁽⁶⁾, возможна «диссоциация» в процессах обмена. Эта «диссоциация» выражается в том, что реакции биологического окисления,

доставляющие энергию клетке, и процессы мобилизации этой энергии в легко доступную для использования форму (фосфорилирование) оказываются разобщенными. Указанная «диссоциация» лежит в основе

утраты клетками синтетической и функциональной активности, что может иметь место и при количественно неизменном дыхании. Приведенные факты еще раз подчеркивают недостаточность лишь количественного учета дыхания и гликолиза без изучения сопряженного с этими процессами фосфорилирования. Указанные соображения заставили нас подойти к изучению анаэробных и аэробных механизмов в энергетическом балансе опухолевой клетки с точки зрения участия их в процессе сопряженного фосфорилирования.

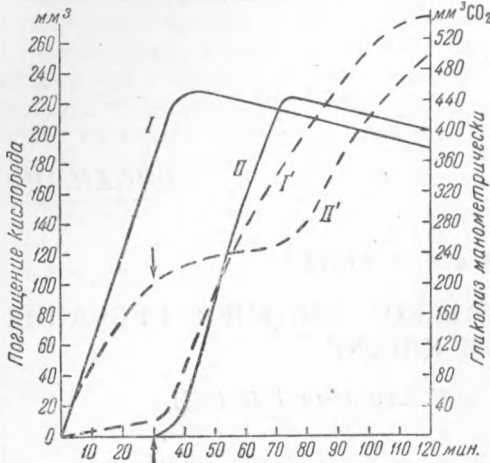


Рис. 1. Влияние процесса гликолиза на интенсивность дыхания асцитических раковых клеток (обратная П. Р.). Среда рингер-бикарбонат; сухой вес клеток 22 мг. Цифры даны в расчете на всю пробу. I и II — гликолиз, I' и II' — дыхание. I и I' — глюкоза добавлена в начале опыта, II и II' — глюкоза добавлена на 30-й минуте (стрелка)

условия (атмосфера азота), гликолиз сахара или добавлением гликолитических ядов. Об интенсивности фосфорилирования судили по скорости внедрения меченого фосфора в кислотонерастворимую органическую фракцию (рибонуклеиновая, дезоксирибонуклеиновая кислоты и фосфопротеины).

В присутствии 0,2% глюкозы асцитические клетки интенсивно гликолизуют, причем скорость гликолиза мало зависит от условий аэрации: $Q_{CO_2}^{N_2} = 62$, $Q_{воздух}^{CO_2} = 51$. Такой высокий уровень аэробного гликолиза свидетельствует о нарушенной пастеровской реакции (П. Р.). В отсутствие глюкозы образования молочной кислоты не происходит и отмечается интенсивное дыхание $Q_{O_2} = 12$, с дыхательным коэффициентом 0,8, что говорит о неуглеводной природе сжигаемых эндогенных субстратов. В условиях, обеспечивающих протекание и гликолиза и дыхания (аэробноз, глюкоза), имеют место

оба эти процесса, однако количественно измененные. В то время как скорость гликолиза в аэробных условиях в результате П. Р. уменьшается всего на 20%, величина дыхания падает очень резко ($Q_{O_2} = 2-4$).



Рис. 2. Влияние монобромacetата на интенсивность дыхания и фосфорилирование асцитических раковых клеток. Среда рингер-бикарбонат; сухой вес 22 мг. Цифры даны в расчете на всю пробу. А — дыхание, Б — внедрение P^{32} в кислотонерастворимую фракцию (число импульсов в минуту). I — без глюкозы, II — без глюкозы + BrAc, III — глюкоза, IV — глюкоза + BrAc

Это угнетение дыхания происходит не от тормозящего действия сахара как такового, или образующейся молочной кислоты.

Опыты показали, что торможение дыхания связано не с каким-либо отдельным звеном или промежуточным продуктом гликолиза, а, видимо, с процессом гликолиза в целом, и всякая задержка последнего приводит к восстановлению скорости дыхания до исходного уровня ($Q_{O_2} = 12$). Так, остановка гликолиза в случае истощения буферной емкости среды при наличии достаточного количества глюкозы и молочной кислоты приводит к восстановлению нормального дыхания (см. рис. 1). То же имеет место и при истощении всего имеющегося в среде сахара. Угнетающее действие процесса гликолиза на дыхание было выявлено и в опытах с гликолитическими ядами. Монобром-ацетат (BrAc) в концентрации $7 \cdot 10^{-4}$ M полностью блокировал гликолиз, увеличивая одновременно дыхание почти до уровня безглюкозной пробы (см. рис. 2).

Таким образом, наряду со слабо выраженной прямой П. Р., асцитические раковые клетки, согласно нашим опытам, характеризуются отчетливой «обратной П. Р.» (7), выражающейся в резком подавлении оксидотических процессов гликолизом. Обнаруженные нами сложные взаимоотношения аэробного и анаэробного обмена в опухолевой клетке находят свое отражение и в процессах фосфорилирования.

Опыты показали, что как гликолиз, так и дыхание сопровождаются эффективным сопряженным фосфорилированием. В присутствии глюкозы, при исключении дыхания анаэробнозом (атмосфера азота), внедрение P^{32} в органические реакции за счет гликолитического расщепления сахара было весьма интенсивным. В аэробных условиях, без добавления какого-либо субстрата извне, асцитические клетки также показали высокий уровень внедрения фосфора за счет процесса дыхания. Однако общий объем эстерификации фосфора в случае анаэробного гликолиза почти в 2 раза выше, чем при дыхании за счет эндогенных субстратов.

Особый интерес представляло изучение фосфорилирования в условиях, наиболее приближающихся к физиологическим, т. е. при наличии глюкозы (0,2%) и кислорода воздуха (см. рис. 3). В этом случае дыхание и гликолиз, хотя и измененные количественно, сосуществуют, и наблюдаемое фосфорилирование является результирующей этих двух процессов. При сравнении аэробной, содержащей глюкозу пробы с соответствующей анаэробной оказалось, что деминерализация фосфора в этих

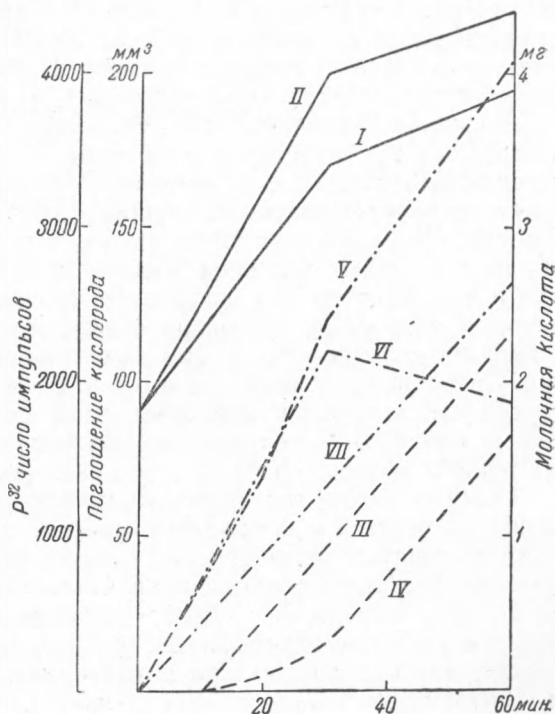


Рис. 3. Дыхание, гликолиз и фосфорилирование в асцитических раковых клетках. Среда сыровотка, сухой вес клеток 13 мг. Цифры даны в расчете на всю пробу. Гликолиз: I — воздух, глюкоза; II — азот, глюкоза. Дыхание: III — глюкоза; IV — без глюкозы. Внедрение P^{32} в кислотонерастворимую фракцию: V — воздух, глюкоза; VI — азот, глюкоза; VII — воздух, без глюкозы

двух пробах практически одинакова. Лишь в некоторых опытах внедрение P^{32} в аэробных условиях было на 5—10% выше, чем в азоте.

Этот факт находит свое объяснение в описанных выше взаимоотношениях дыхания и гликолиза, проявляющихся в существовании в раковых клетках слабо прямой и резко выраженной обратной пастеровской реакции. Отсутствие прироста фосфорилирования в аэробных пробах по сравнению с анаэробными является результатом резкого угнетения гликолизом процесса дыхания и связанного с последним фосфорилирования. Весь объем фосфорилирования в аэробной пробе с экзогенной глюкозой должен быть отнесен, главным образом, за счет гликолитического механизма. Доля участия дыхательного процесса в общем балансе деминерализации фосфора составляет 20—30%, т. е. оно покрывает тот дефицит в объеме гликолитического фосфорилирования, который определяется действием прямой пастеровской реакции.

Указанный параллелизм в скоростях внедрения P^{32} в аэробных и анаэробных пробах сохраняется лишь до тех пор, пока продолжается интенсивный гликолиз, и немедленно нарушается при задержке образования молочной кислоты. В последнем случае радиоактивность анаэробных проб начинает уменьшаться, ибо исключается единственно возможный в данных условиях механизм эстерификации фосфора, тогда как в аэробных пробах внедрение продолжается, хотя и с несколько меньшей скоростью, благодаря восстановлению вследствие прекращения гликолиза нормального уровня дыхательного механизма фосфорилирования. Такое переключение одного типа обмена и фосфорилирования на другой наблюдается и при действии монобромцетата. Остановка гликолиза сопровождается восстановлением дыхания с характерным для последнего уровнем фосфорилирования (см. рис. 2).

Таким образом, мы приходим к выводам, что в условиях, наиболее приближающихся к физиологическим, т. е. в присутствии глюкозы и кислорода воздуха, доля участия гликолитического механизма в общем балансе фосфорилирования в асцитических раковых клетках составляет около 70% и лишь около 30% обеспечиваются дыхательным процессом. Эти соотношения определяются существованием в указанных клетках двусторонней связи дыхания и гликолиза: резко выраженной обратной и слабой прямой пастеровской реакции. Опухолевые клетки показали хорошую адаптированность к изменению условий существования.

Поступило
1 II 1951

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ O. Warburg, Über den Stoffwechsel der Tumoren, Berlin, 1926. ² J. Janu u. C. Sellei, Biochem. Zs., 236, 348 (1931). ³ В. А. Энгельгардт, Каз. мед. журн., № 5—6, 535 (1930); № 4—5, 496 (1931). ⁴ В. А. Энгельгардт, Усп. сов. биол., 17, 237 (1944). ⁵ И. Ф. Сейц и В. А. Энгельгардт, ДАН, 66, 439 (1949); Биохимия, 14, 488 (1949). ⁶ Н. В. Ельцина и И. Ф. Сейц, ДАН, 70, 457 (1950). ⁷ В. А. Белицер, Усп. сов. биол., 8, 416 (1938).