

С. Р. МАРДАШЕВ и А. К. ПИККАТ

## СИНТЕЗ И ГИДРОЛИЗ ГЛЮТАТИОНА ПРИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЯХ

(Представлено академиком А. Д. Сперанским 26 III 1951)

Вопрос о синтетической и гидролитической активности протеаз при злокачественных опухолях, несмотря на большое число исследований, остается до сих пор во многих отношениях спорным (1). Особенно слабо изучен вопрос о протеосинтезе как в самой опухоли, так и в органах и тканях животных-опухоленосителей.

Обратимость протеолитических процессов, катализуемых пищеварительными ферментами, доказал впервые, как известно, А. Я. Данилевский еще в 1886 г. Применительно же к злокачественным новообразованиям протеосинтез пытались экспериментально доказать Вегтлин, Мейвер и Джонсон (2) и Рондони и Поцци (3). Названные авторы сообщили об установленном ими увеличении веществ, осаждаемых трихлоруксусной кислотой, в результате пропускания через смесь продуктов ферментативного гидролиза белков кислорода, при определенном рН, а Рондони и Поцци — при добавлении перекиси водорода. Недостатком этих опытов является то, что в них отсутствует строгая качественная и количественная характеристика как исходных веществ, вступающих в реакцию, так и конечных продуктов синтеза. Более убедительные доказательства в пользу повышенного протеосинтеза тканями опухоли по сравнению с нормальной печенью были представлены опытами Б. И. Шомина (4), пока, однако, никем еще не воспроизведенными.

Не удалось разрешить настоящий вопрос также и в опытах с применением изотопной техники (5, 6), так как внедрение меченых аминокислот или дейтерия в белки органов и тканей не является еще бесспорным доказательством повышенного синтеза протеинов, в частности увеличения массы их.

Мы поставили перед собой задачу изучить ферментативную активность в отношении синтеза и гидролиза пептидной связи как самой опухоли, так и отдельных органов (печени) животных-опухоленосителей, пользуясь для этого глутатионом — физиологическим трипептидом, предсуществующим в животном организме. Мы изучали синтез глутатиона из соответствующих аминокислот и гидролиз его переживающими срезами печени белых крыс — нормальных и с трансплантированной крысиной саркомой М-1; кроме того, исследовалась ферментативная активность самой ткани опухоли, соответствовавшей 15—25 дням развития. Животные содержались в одинаковых условиях питания и общего режима.

Глутатион (GSH) определялся нами глиоксалазным методом Шредера и Вудворда по титриметрическому варианту (7) с видоизменениями, предложенными Г. А. Шамшиковой и А. Л. Иоффе (8). Определялся

общий глутатион, переведенный в сульфгидрильную форму при помощи электровосстановления.

Условия, при которых проводился синтез глутатиона, приведены в табл. 1. Гидролиз преформированного глутатиона определялся одновременно с синтезом. Параллельный контрольный сосудик, куда не добавлялись аминокислоты, служил для измерения величины гидролиза.

Таблица 1

Синтез и гидролиз глутатиона срезами печени (средние цифры). (Вес срезов 250 мг. Объем инкубируемой смеси (рингер-бикарбонат + срезы ткани) 5 мл. Конечные концентрации аминокислот: *L*-цистеин 0,0065 М, *L*-глутаминовая кислота 0,014 М, глицин 0,02 М. Газовая смесь: O<sub>2</sub> 95%, CO<sub>2</sub> 5%. pH 7,4. Инкубация [в водяной бане при 38° в течение 2 час.)

Крысы	Содержание GSH в мг на 1 г ткани			Синтез		Гидролиз	
	начальное	после 2-часовой инкубации		мг на 1 г в 1 час	% к начальному	мг на 1 г в 1 час	% к начальному
		без аминокислот	с аминокислотами				
Нормальные	1,98	1,06	1,33	0,14	7,1	0,46	23,2
Опухолевые	2,17	0,88	1,45	0,29	13,4	0,65	30,0

В опытах *in vitro*, при содержании крыс до опыта на обычном питании, преобладает резко выраженный процесс гидролиза, отмечаемый и другими исследователями. За величину синтеза мы принимали разность между уровнем глутатиона в среде с добавленными аминокислотами (опытный сосудик) и содержанием глутатиона в контрольном сосудике без добавления аминокислот. Из целого ряда наблюдений мы пришли к твердому убеждению, что разность в уровнях глутатиона в опытном и контрольном сосудиках никак не может быть объяснена задержкой гидролиза (в присутствии добавленных аминокислот), а представляет собой бесспорно величину синтеза трипептида переживающими срезами печени.

Синтез глутатиона срезами печени нормальных крыс в присутствии соответствующих аминокислот наблюдался в нашей постановке опытов лишь в 1/3 случаев (в 5 из 15). У крыс-опухоленосителей синтез имел место в 65% случаев (в 11 из 17), следовательно, наблюдался в два раза чаще. Гидролиз имел место во всех без исключения опытах.

В табл. 1 приведены средние цифры опытов, которые дали положительные результаты в отношении синтеза. Как видно из таблицы, синтез глутатиона срезами печени здоровых животных составлял в среднем 0,14 мг на 1 г сырой ткани в час, а у опухолевых животных величина синтеза составляла в среднем 0,29 мг на 1 г в час, следовательно, была в два раза выше, чем у нормальных животных. Процент синтезированного глутатиона к начальному содержанию составлял соответственно 7,1 и 13,4%, следовательно, также почти в два раза выше у крыс-опухоленосителей.

Гидролиз преформированного глутатиона срезами печени опухолевых крыс, как показывают средние цифры в табл. 1, несколько выше, а именно в 1,4 раза по сравнению с нормальными животными. Если сравнить отношение синтеза глутатиона к его гидролизу срезами печени нормальных и опухолевых животных, то отношение это у нормальных крыс равняется 0,30, а у опухолевых 0,45. Следовательно, у животных-опухоленосителей в опытах *in vitro* отношение это несколько сдвинуто в сто-

рону увеличения синтеза глутатиона по сравнению с нормальными крысами.

Что касается самой ткани опухоли (саркомы), то установить в опытах *in vitro* синтез глутатиона из аминокислот срезами опухоли нам не удалось (см. табл. 2). Гидролиз глутатиона срезами опухоли по сравнению с печенью заметно ниже, но в исследованных случаях наблюдался закономерный рост его по мере развития опухоли (3,3, 15 и 21,9%).

Таблица 2

Синтез и гидролиз глутатиона срезами ткани опухоли (крысиная саркома М-1)

(Условия опыта те же, что и в табл. 1)

Возраст опухоли в днях	Содержание GSH в мг на 1 г ткани			Синтез		Гидролиз	
	начальное	после 2-часовой инкубации		мг на 1 г в 1 час	% к начальному	мг на 1 г в 1 час	% к начальному
		без аминокислот	с аминокислотами				
13	0,60	0,56	0,56	—	—	0,02	3,3
16	0,80	0,56	0,56	—	—	0,12	15,0
19	0,64	0,36	0,36	—	—	0,14	21,9

Таблица 3

Среднее содержание глутатиона в тканях

Ткань	GSH в мг на 1 г*	Число исследований
Печень опухолевых крыс . . . . .	2,11 (1,28—3,04)	17
Печень нормальных крыс . . . . .	1,89 (0,96—3,12)	15
Почка нормальных крыс	0,80	2
Селезенка нормальных крыс . . . . .	0,80	1
Мышцы нормальных крыс . . . . .	0,32	2
Кожа нормальных крыс	0,12	2
Рыхлая соединительная ткань нормальных крыс . . . . .	0,11	2
Ткань опухоли (крысиная саркома М-1) . . . . .	0,68 (0,60—0,80)	3

\* В скобках приведены пределы колебаний.

Как видно из табл. 3, абсолютное содержание глутатиона в печени крыс-опухоленосителей несколько выше, чем у нормальных животных. В опухоли же содержание глутатиона ниже, чем в печени и почках, но в два раза выше, чем в мышцах, и в пять-шесть раз выше, чем в рыхлой соединительной ткани и коже. Таким образом, если за родоначал-

ную («материнскую») ткань саркомы считать соединительную или мышечную ткань, то в опухоли содержание глутатиона значительно выше, чем в соответствующей нормальной ткани.

Повышение синтетической активности в отношении глутатиона в тканях животных-опухоленосителей отмечается впервые нами. Наши опыты показывают, что синтез пептидной связи из природных аминокислот с образованием трипептида глутатиона в органах опухолевых животных протекает в два раза быстрее, чем у нормальных животных.

Повышенный синтез глутатиона может быть объяснен повышением протеолитических процессов в организме опухолевых животных и наличием в связи с этим свободных аминокислот, могущих служить материалом для построения трипептида, или усилением реакций, доставляющих энергию для этого синтеза.

Повышенное содержание глутатиона, в свою очередь, может способствовать синтезу белков путем участия в процессах транспептидирования, в соответствии со взглядами, развиваемыми в последнее время некоторыми исследователями (<sup>9</sup>, <sup>10</sup>) и основанными на довольно убедительных экспериментальных данных.

Поступило  
26 III 1951

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> С. Р. Мардашев, Энзимология опухолей, 1948. <sup>2</sup> C. Voegtlin, M. E. Maver and J. M. Johnson, Science, 77, 12 (1933). <sup>3</sup> P. Rondoni u. L. Pozzi, Zs. physiol. Chem., 219, 22 (1933). <sup>4</sup> Б. И. Шомин, Бюлл. эксп. биол. и мед., 7, в. 4, 346 (1939). <sup>5</sup> P. C. Zamesnik, Canc. Res., 10, 659 (1950). <sup>6</sup> А. С. Коницова и С. Я. Давыдова, Укр. биох. журн., 22, № 4, 420 (1950). <sup>7</sup> E. F. Schroeder and G. E. Woodward, Journ. Biol. Chem., 129, 283 (1939). <sup>8</sup> Г. А. Шамшикова и А. Л. Иоффе, Биохимия, 12, 437 (1947). <sup>9</sup> C. S. Hanes, F. J. R. Hird and F. A. Isherwood, Nature, 166, 288 (1950). <sup>10</sup> R. B. Johnston, Mary J. Mycek and J. S. Fruton, Journ. Biol. Chem., 185, 629 (1950).