

Н. В. ЕЛЬЦИНА

РОЛЬ ГЛИКОЛИТИЧЕСКИХ И ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ В ОБНОВЛЕНИИ БЕЛКОВ ОПУХОЛЕВОЙ КЛЕТКИ

(Представлено академиком А. И. Опариным 2 VI 1953)

В настоящее время не вызывает сомнений, что физиологическая эффективность дыхания и гликолиза определяется интенсивностью сопряженного с этими процессами фосфорилирования. Энергия макроэргических фосфатных связей может быть использована клеткой для разнообразных биологических синтезов, обеспечивающих ее жизнедеятельность, и для осуществления тех или иных специальных функций. В этой связи можно полагать, что опухолевая ткань, характеризующаяся активным размножением клеточных элементов, использует энергию макроэргических фосфорных соединений, в первую очередь, в процессе интенсивного синтеза клеточных белков, однако возможно, что эти соединения участвуют и в непрерывном обновлении аминокислотного состава клеточных белков, обеспечивая тем самым особое нативное состояние их в живой клетке. Синтез пептидной связи, как показано в целом ряде модельных опытов, требует для своего осуществления энергии окислительных процессов. Совершенно очевидно, что образование пептидной связи между аминокислотами имеет место не только при новообразовании белка, но и при обновлении белковой структуры.

Внедрение меченых аминокислот в белки расценивается некоторыми авторами (1, 2) как индикатор биологического синтеза протеинов, что представляется нам недостаточно обоснованным. Величина специфической или удельной радиоактивности не может регистрировать синтез новых белковых молекул, характеризуя лишь скорость молекулярной регенерации белков, метаболическую их активность. В ряде сообщений последнего времени (3, 4), а также в наших еще не опубликованных опытах злокачественные ткани, характеризующиеся интенсивным синтезом белков, не показали по сравнению с покоящимися тканями большей величины внедрения меченых аминокислот. Мы полагаем, что внедрение аминокислот в тканевые белки характеризует процесс их обновления, но не новообразования. Ниже мы сообщаем данные, показавшие зависимость обновления тканевых белков от синтеза богатых энергией фосфорных соединений.

Опыты проводились на асцитических клетках карциномы Эрлиха, взвешенных в рингер-бикарбонате. Окислительные процессы выключались добавлением KCN или NaN_3 , гликолиз — лишением клеток глюкозы. Измерения дыхания и гликолиза производились в аппарате Варбурга. Об обновлении белковой структуры судили по скорости внедрения радиоактивного метионина в клеточные белки, которые после осаждения трихлоруксусной кислотой и извлечения фосфолипидов растворялись в 1 N KOH. Раствор белка подсушивался и служил для определения радиоактивно-

сти. В этом же растворе концентрация белка определялась биуретовой реакцией.

Опыты показали, что внедрение меченой аминокислоты в белки клетки происходит только при наличии процесса дыхания или гликолиза (см. рис. 1.). Добавление трихлоруксусной кислоты к клеткам в начале опыта практически лишает пробы активности. Подавление указанных выше процессов специфическими ингибиторами также снижает специфическую активность белков почти до уровня начальной пробы.

Сопоставление величины специфической активности белков в пробах, где дыхание клеток было выключено и гликолиз являлся единственным энергетическим источником, обеспечивающим жизнедеятельность клетки, с пробами, где клетки существовали за счет одного процесса дыхания, показало значительное превышение этой величины в первом случае (см. табл. 1). Если принять величину специфической активности белков для клеток, существующих за счет гликолитического расщепления сахара, за 100%, то соответствующая величина для клеток, где дыхание являлось

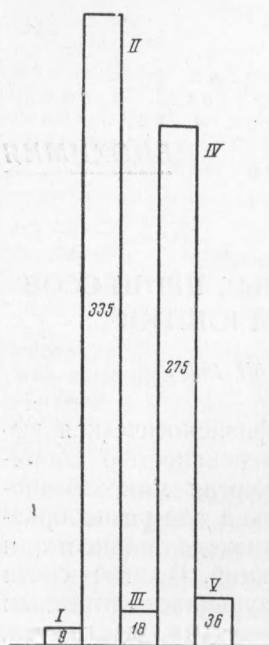


Рис. 1. Внедрение меченого метионина в белки раковых клеток (специфическая активность за 1 мин. на 1 мг белка). I — клетки + CCl_3COOH (начальная), II — клетки + глюкоза 0,2% + KCN 0,005 M, III — клетки + глюкоза 0,2% + KCN 0,005 M + NaF 0,02 M, IV — клетки без глюкозы, V — клетки без глюкозы + KCN 0,005 M. Инкубация проб — 30 мин.

единственным энергетическим источником, составит в среднем 60%. Таким образом, анаэробный механизм оказался количественно преобладающим над аэробным не только в отношении общего подъема деминерализации фосфора опухолевой клеткой (5), но и в отношении процессов, связанных с обновлением аминокислотного состава белков. Эти опыты дают возможность заключить, что метаболическая активность белков клетки, выражающаяся в непрерывном обновлении их состава, зависит от синтеза богатых энергией фосфорных соединений.

Представлялось интересным проследить обновление белка в условиях для опухолевой клетки, приближающихся к физиологическим, т. е. при наличии глюкозы (0,2%) и кислорода воздуха, когда и дыхание и гликолиз существуют одновременно (см. табл. 1). При сравнении аэробных проб, содержащих глюкозу, с соответственными анаэробными оказалось, что величина специ-

Таблица 1

№ протокола	Специфич. активность за 1 мин. на 1 мг белка			Внедрение метионина в %			
	глюкоза (гликолиз)	без глюкозы, O_2 (выдохное дыхание)	дыхание + гликолиз	гликолиз	дыхание	гликолиз + дыхание	
						найд.	расч.
5	443	346	513	100	78	115	178
5	434	251	444	100	59	102	159
8	579	442	773	100	76	133	176
10	749	409	770	100	53	105	153
11	715	564	1002	100	80	139	180
21	400	163	426	100	40	106	140
22	557	260	434	100	46	78	146
23	686	442	753	100	64	109	164
27	361	165	361	100	45	100	145
28	455	280	433	100	61	99	161
32	533	333	666	100	62	125	162
29	680	480	780	100	70	114	170
Среди...				61	109	161	

фической радиоактивности белка приближается к последним, в среднем превышая ее лишь на 9%. Следовательно, увеличения радиоактивности в результате суммирования двух энергетических процессов в тех объемах, в каких они существуют порознь, здесь не происходит. Если бы такое суммирование имело место, то величина специфической радиоактивности белка в аэробных пробах на глюкозе должна была превышать анаэробные в среднем на 60% (см. табл. 2). Специфическая

Таблица 2

№ протокола	Состав проб	Время инкубации в мин.	Дыхание в мм ³	Гликолиз в СО ₂ мм	Специфич. активность за 1 мин. на 1 мг белка
10	Начальная (клетки + ССl ₃ СООН)	0	—	—	2
	Контроль I (клетки + глюкоза 0,2 %)	20	19	274	749
	Контроль + АПФ	30		316	143
	Контроль II (клетки без глюкозы)	30	56		409
	Контроль + АПФ	30	80		55
11	Начальная (клетки + ССl ₃ СООН)	0	—	—	4
	Контроль I (клетки + глюкоза 0,2%)	20		429	715
	Контроль + АПФ	30		428	440
	Контроль II (клетки без глюкозы)	30	104		564
	Контроль + АПФ	30	100		132
12	Начальная (клетки + ССl ₃ СООН)	0	—	—	11
	Контроль I (клетки + глюкоза 0,2%)	20	20	187	510
	Контроль + АПФ	20		190	220
	Контроль II (клетки без глюкозы)	20	56		225
	Контроль + АПФ	20	58		75

радиоактивность белка, где клетки существуют за счет двух энергетических процессов, приближается к величине радиоактивности белка, где реакции синтеза обусловлены одним только гликолитическим процессом. Этот результат может быть понят из установленной для асцитических раковых клеток двухсторонней зависимости между гликолизом и дыханием, выражающейся в их взаимоторможении (5). Незначительная доля участия дыхательного механизма в общем объеме деминерализации фосфора опухолевой клеткой определяется в значительной степени существованием обратной пастеровской реакции, т. е. тем, что гликолиз вызывает резкое подавление дыхания (потребление кислорода по своей абсолютной величине уменьшается в среднем в 3 раза) и сопряженного с ним фосфорилирования. В свою очередь дыхание оказывает также известное тормозящее действие на гликолиз, однако, угнетение гликолитического процесса относительно незначительно и не превышает 20%. Таким образом, анаэробный механизм фосфорилирования имеет в аэробных условиях возможность для своей почти полной реализации. Взаимоторможение указанных процессов объясняет отсутствие резкого увеличения деминерализации фосфора при существовании двух энергетических процессов и приближение величины деминерализации к тому значению, которое характеризует один гликолитический механизм.

Выше была показана зависимость обновления аминокислотного состава белков от интенсивности процессов фосфорилирования. Полученные

близкие значения специфической радиоактивности белка аэробных и анаэробных проб, содержащих глюкозу, и объясняется поэтому тем, что объем деминерализации фосфора в обоих случаях очень близок, так как в координации анаэробного и аэробного обмена опухолевой клетки гликолизу и сопряженному с ним фосфорилированию принадлежит ведущая роль. Очевидно, этот механизм эстерификации обеспечивает, в основном, возможность обновления аминокислотного состава белков опухолевой клетки, так как доля его участия в общем балансе фосфорилирования составляет величину, близкую к 70% (5).

Значение макроэргических соединений в процессе обновления клеточных белков с особой четкостью выступает при применении агентов, функционально обесценивающих дыхание нарушением генерации богатых энергией соединений. Недавно было показано (6, 7), что при неизменном с количественной стороны дыхания под влиянием динитрофенола внедрение аминокислот в белки резко подавлялось. В наших опытах был применен эндогенный тканевой агент АПФ, который, аналогично экзогенным пастеровским ядам, не только нарушает фосфорилирование, не затрагивая с количественной стороны дыхание, но также нарушает в асцитических раковых клетках и фосфорилирование, сопряженное с гликолизом (8). Прибавление препарата АПФ, выделенного из пекарских дрожжей, к раковым клеткам, не затрагивая с количественной стороны дыхания, резко нарушало внедрение метионина в клеточные белки. Так например, в опыте (табл. 2, протокол № 10) дыхание раковых клеток при добавлении препарата АПФ даже возросло, однако наблюдалась резкая задержка внедрения метионина. Радиоактивность белка снизилась с 409 до 55 отсчетов в минуту. Такое же резкое торможение внедрения меченой аминокислоты было и в пробах, где имел место гликолиз, что не отражалось на величине образования клетками молочной кислоты. В том же опыте радиоактивность белка при добавлении препарата АПФ к гликолизующим клеткам уменьшилась с 749 отсчетов до 143. Эти факты с достаточной определенностью показывают, что только функционально полноценный, т. е. сопряженный с синтезом макроэргических соединений, энергетический процесс обеспечивает возможность обновления клеточных белков. Всякое нарушение образования богатых энергией фосфорных соединений резко замедляет или даже останавливает регенерацию клеточных белков.

Выводы из приведенных опытов таковы: обновление клеточных белков — процесс, требующий участия богатых энергией фосфорных соединений. В опухолевой клетке более высокий уровень фосфорилирования, сопряженный с гликолизом, в сравнении с дыхательным механизмом эстерификации фосфора, определяет соответственно и значительно более быстрое внедрение аминокислот в клеточные белки. В условиях, наиболее приближающихся к физиологическим, т. е. в присутствии глюкозы и кислорода воздуха обновление белков опухолевой клетки происходит, в основном, за счет процесса гликолиза; дыхательный механизм имеет подчиненное значение.

Поступило
13 VI 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ R. Schoenheimer, *The Dynamic State of Body Constituents*, Harvard Univ. Press (1942). ² D. Greenberg, F. Friedberg et al., *Cold Spring Harbor Symposia on Quantit. Biol.*, **13** (1948). ³ S. Kit, D. Greenberg, *Cancer Research*, **11**, 500 (1951). ⁴ A. Griffin, S. Bloom et al., *Cancer*, **3**, 316 (1950). ⁵ Н. В. Ельцина, И. Ф. Сейц, *ДАН*, **77**, 653 (1951). ⁶ I. Frantz, P. Zamesnik et al., *J. Biol. Chem.*, **174**, 773 (1948). ⁷ J. Melchior, O. Klioze, I. Klotz, *J. Biol. Chem.*, **189**, 411 (1951). ⁸ Н. В. Ельцина, И. Ф. Сейц, *ДАН*, **70**, 457 (1950); *Биохимия*, **16**, 62 (1951).