

Г. АЧ и Ф. Б. ШТРАУБ

ОБ ОБМЕНЕ ВЕЩЕСТВ АСЦИТИЧЕСКИХ РАКОВЫХ КЛЕТОК

(Представлено академиком В. А. Энгельгардтом 3 III 1954)

Характерным для обмена веществ асцитических раковых клеток является то, что в аэробных условиях глюкоза тормозит дыхание, т. е. наблюдается обратный пастеровский эффект ⁽¹⁾. Это явление было в дальнейшем еще исследовано некоторыми авторами, однако объяснить его механизм не удалось. В наших опытах мы исходили из того, что обратный пастеровский эффект и обычный пастеровский эффект являются двумя крайними типами обмена веществ, основанными на одном и том же механизме.

Белые мыши заражались внутрибрюшинно эрлиховским штаммом раковой опухоли, вызывающей асцит. Дыхание измерялось в атмосфере кислорода, а гликолиз в присутствии 95% N₂ и 5% CO₂ по способу Варбурга, в растворе Кребс — Генселейта; 3 мл экспериментальной смеси содержали 0,4—0,5 мл клеток.

Результаты

1. Развитие тормозящего действия глюкозы во время размножения асцитических раковых клеток. Больше всего раковых клеток можно получить из брюшной полости мышей через 10—12 дней после прививки. Однако небольшое количество клеток можно получить уже на 6-й день с помощью промывания брюшной полости. На рис. 1 показано изменение интенсивности эндогенного дыхания, дыхания в присутствии глюкозы и аэробного гликолиза в зависимости от времени, прошедшего с момента прививки. Как видно из рисунка, степень аэробного гликолиза вначале невысокая, постепенно повышается и начиная с 9-го дня держится на постоянном высоком уровне. Подобные же изменения наблюдаются в отношении эндогенного дыхания. На 6-й и 7-й день глюкоза не тормозит дыхание; тормозящее действие его развертывается только тогда, когда становится заметным возрастание аэробного гликолиза.

Ввиду очень энергичного аэробного гликолиза, для измерения данного явления требуется присутствие достаточно большого количества глюкозы и быстрое проведение опыта. Это объясняется тем, что после израсходования глюкозы дыхание освобождается от тормозящего влияния и в присутствии возникающего большого количества молочной кислоты становится сильнее, чем в контрольном опыте. В наших опытах мы обычно применяли 2 мг/мл глюкозы и вычисляли данные обмена веществ за первые тридцать минут.

Брин ⁽²⁾ изучал вопрос о том, тормозят ли фосфорилированные гексозы, подобно глюкозе, дыхание асцитических раковых клеток. Полученные им отрицательные результаты доказывают только то, что уже известно относительно других клеток: фосфорилированные гексозы не способны проникать через клеточные оболочки. Нам удалось показать, что после разрушения структуры клеток фруктозодифосфат тормозит

дыхание в такой же степени, как глюкоза тормозит дыхание неразрушенных клеток, и это лишний раз доказывает, что торможение вызывается гликолизом (3).

2. Образование асцитических клетками АТФ. Продуцирование полезной энергии в асцитических клетках не соответствует интенсивности их дыхания. Это показывают определения АТФ приведенные нами с помощью специфического микрометода Крамер — Петко — Штрауба (4). В то время как содержание АТФ в свежих клетках в момент взятия пробы равно 2,1 мг/мл, в отсутствие глюкозы в кислороде, через 30 минут, содержание АТФ, несмотря на активное дыхание понижается до 0,57 мг/мл. В то же время при наличии глюкозы, тормозящей

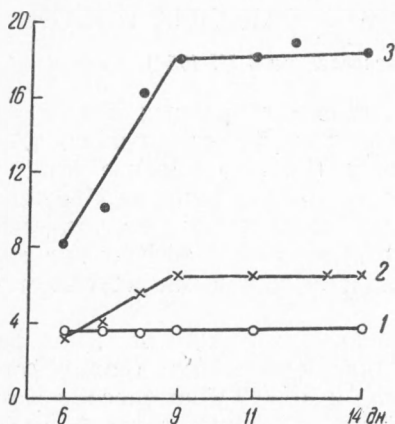


Рис. 1. Клетки в растворе Кребс-Генселейта, темп. 38°; Q-поглощение O_2 или отдача CO_2 в мл/мл клеток. 1 — дыхание в присутствии глюкозы, 2 — дыхание в отсутствие глюкозы, 3 — аэробный гликолиз

дыхание, содержание АТФ повышается до 2,8 мг/мл. Таким образом, эндогенное дыхание, заключающееся главным образом в окислении молочной кислоты (5), не может сохранить равновесия между расходом и синтезом макроэргических фосфатов, тогда как аэробный гликолиз способен на это. Этот факт одновременно указывает, почему клетки нуждаются в высоком уровне аэробного гликолиза.

3. Связь тормозящего влияния глюкозы с внутриклеточным содержанием фосфата. Согласно теории Линена (6) пастеровский эффект вызывается тем, что как окисление, так и гликолиз являются процессами, требующими неорганического фосфата. Если окисление потребляет неорганический фосфат более интенсивно, оно тормозит гликолиз. На основе этой теории объяснение обратного пастеровского эффекта следует

искать в том, что в результате аэробного гликолиза в асцитических раковых клетках неорганический фосфат потребляется более интенсивно, чем в результате дыхания этих клеток. Это значит, что в аэробных условиях, в отсутствие глюкозы, следует ожидать более высокого уровня неорганического фосфата, а в присутствии глюкозы более низкого уровня (содержание P_0 , определяемое методом Фиске — Субарова (7), после осаждения белков трихлоруксусной кислотой является, по всей вероятности, более высоким, чем действительное содержание неорганического фосфата, так как кроме креатин-фосфата нужно считаться и с возможностью наличия других, еще неизвестных, легко гидролизующихся фракций фосфата. Мы пока еще не располагаем надежным методом определения неорганического фосфата, и поэтому ограничились определением P_0).

В соответствии с приведенными выше величинами содержания АТФ оказалось, что в ходе инкубации, происходившей в аэробных условиях без глюкозы, содержание P_0 повышается, а при наличии глюкозы понижается (табл. 1).

Эта теория подтверждается и нашими данными, полученными при наличии 2,4-динитрофенола. Под действием 2,4-динитрофенола, как известно, в большинстве тканей дыхание усиливается, но в то же время повышается и уровень неорганического фосфата, потому что фосфорилирование, связанное с окислением, тормозится (8). Известно также, что динитрофенол не влияет на анаэробный гликолиз. Наши опыты показывают, что динитрофенол соответствующей концентрации не тормозит, а, наоборот, несколько усиливает аэробный гликолиз в асцитических рако-

вых клетках. Динитрофенол в данной концентрации однако прекращает действие глюкозы, тормозящее дыхание. Определение содержания неорганического фосфата показывает, что по сравнению с уровнем P_0 , най-

Таблица 1

Изменение неорганического фосфата и АТФ под действием инкубации с глюкозой и без нее. (В пересчете на 1 мл клеток. Атмосфера — воздух или 95% N_2 + 5% CO_2 . Концентрация глюкозы 0,02 М; температура 38°

Срок инкубации в мин.	Аэробно				Анаэробно			
	P_0	P_t	$P_t - P_0$	АТФ	P_0	P_t	$P_t - P_0$	АТФ
0	510	770	260	2120	—	—	—	—
30	300	650	350	2860	300	700	400	3280
30 без глюкозы	700	770	70	570	650	710	60	470

денным в присутствии глюкозы, в присутствии динитрофенола содержание P_0 оказывается более высоким (см. табл. 2).

Таблица 2

Действие ДНФ на дыхание, аэробный гликолиз и уровень неорганического фосфата. (Время инкубации 30 мин.; температура 38°)

Проба	Q_{O_2} без глюкозы	Q_{O_2} в присутствии глюкозы	Q_{CO_2}	P_0 мкг
Без ДНФ	6,0	3,5	18	300
$1 \cdot 10^{-4}$ М ДНФ	6,2	7,0	20	500

Опыты Н. В. Ельциной и И. Ф. Сейца (1) впервые показали, что тормозящее дыхание действие глюкозы действительно является следствием аэробного гликолиза, так как под действием монобромацетата торможение исчезает. Вышеописанные наши опыты полностью подтверждают заключение этих авторов. Особенно важным по нашему мнению является наше наблюдение, что в клетках, полученных на 6-й и 7-й день после прививки, аэробный гликолиз стоит на низком уровне и в то же время торможения не наблюдается.

Все наши опыты говорят о том, что обратный пастеровский эффект, так же как и обычный пастеровский эффект, объясняется теорией, согласно которой уровень неорганического фосфата определяет дыхание и гликолиз. В клетках, в которых фосфорилирование, связанное с дыханием, берет перевес, появляется обычный пастеровский эффект, а в асцитических раковых клетках, в которых аэробный гликолиз весьма интенсивен и окислительное фосфорилирование слабо, наблюдается обратный пастеровский эффект.

Наши опыты не разрешают вопроса о том, каким образом способен аэробный гликолиз связывать неорганический фосфат так интенсивно. Опыты В. А. Энгельгардта и Н. Е. Сакова (9) указывают на то, что ключем пастеровского эффекта является изменение активности фосфофруктокиназы. Наши знания относительно этого процесса очень невелики, и

его изучение может приблизить нас к познанию обычного и обратного пастеровского эффекта, а также типа обмена веществ быстро растущих клеток.

Медицинский университет
Будапешт, Венгрия

Поступило
22 II 1954

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ Н. В. Ельцин, И. Ф. Сейц, ДАН, 77, 653 (1951). ² M. Grün, Fed. Proc., 12, 182 (1953). ³ Г. Ач, Диссертация, Budapest, 1953. ⁴ M. Kramer, E. Pettko, F. B. Straub, Kis. Orvost., I, 114 (1949). ⁵ O. Warburg, E. Hiepler, Zs. Naturf., 76, 193 (1952). ⁶ F. Lynen, Ann., 546, 120 (1941). ⁷ C. H. Fiske, I. Subarow, J. Biol. Chem., 66, 375 (1925). ⁸ И. Ф. Сейц, В. А. Энгельгардт, ДАН, 66, 439 (1949). ⁹ В. А. Энгельгардт, Н. Е. Саков, Биохимия, 8, 9 (1943).