Доклады Академии наук СССР
1955. Том 104, № 3

БИОХИМИЯ

Н. В. ЕЛЬЦИНА

К ХАРАКТЕРИСТИКЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ОБМЕНА ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК

(Представлено академиком В. А. Энгельгардтом 5 VII 1955)

Своеобразие в координации аэробного и анаэробного обмена опухолевой клетки находит свое внешнее выражение в резко выраженной обратной и слабой прямой пастеровской реакции. В основе этого сложного двухстороннего взаимодействия лежат конкурентные отношения в процессе образования богатых энергией фосфорных соединений. Наряду со значительным фосфорилированием, сопряженным с дыханием, опухолевая клетка располагает еще более мощным объемом фосфорилирования, сопряженным с гликолизом. Последнее обстоятельство обусловливает ведущее значение гликолитического механизма в деминерализации фосфора, составляя в общем балансе фосфорилирования опухолевой клетки около 70%, в то время как на долю дыхательного механизма падает лишь 30% (1). Энергия процессов дыхания и гликолиза, аккумулированная в макроэргических фосфорных соединениях, непосредственно используется злокачественными тканями в процессе их интенсивного роста. В связи с этим выяснение удельного значения каждого из процессов, снабжающих опухолевую клетку необходимой для роста энергией, позволяет наметить некоторые подходы к воздействию на опухолевый рост.

Биологическое значение процессов дыхания и гликолиза не сводится, однако, только к чисто энергетической стороне, когда они выступают как донаторы энергии в многочисленных реакциях биологических синтезов или участвуя в осуществлении специфической функциональной деятельности. Дыхание и гликолиз участвуют непосредственно в пластическом обмене тканей, являясь источниками химического материала, который используется при построении живого вещества и росте живой массы. Этой второй, не менее важной, стороне биологической роли указанных выше процессов до настоящего времени не уделялось должного внимания. В. А. Энгельгардт (2) первый подчеркнул важность этого нового аспекта в изучении энергетического обмена, который, входя в качестве интегральной части в пластический обмен, образует с ним единое целое.

Для проблемы злокачественного роста указанный аспект изучения представляет особый интерес. В раковой клетке образуется огромное количество промежуточных продуктов, с одной стороны, в результате гликолиза, с другой, за счет окисления веществ неуглеводного характера, являющихся субстратом аэробных превращений. Размеры метаболической активности злокачественных опухолей характеризуются давно установленным фактом, что продукция молочной кислоты за несколько часов аэробного гликолиза равна сухому весу самой опухоли. Однако этот конечный продукт ферментативных реакций гликолитического цикла без дальнейших превращений не может быть использован клеткой в реакциях синтеза. Возможно, что дыхательный механизм опухолевой клетки в какой-то мере использует гликолитически образовавшуюся молочную кислоту в качестве субстрата окисления, дегидрируя ее в пировиноградную кислоту и вовлекая ее таким образом в синтетические процессы.

Ниже мы сообщаем данные, из которых видно, что ассимиляция углеводов при построении белков, липидов и нуклеиновых кислот в опухолевой клетке происходит при наличии двух энергетических процессов.

Опыты проводились на асцитических клетках карциномы Эрлика, взвешенных в рингер-бикарбонате. Дыхание и гликолиз измерялись в варбурговской аппаратуре, в первом случае — со щелочью в среднем резервуаре, во втором — по нарастанию давления в отсутствие щелочи. Продолжительность инкубации проб 50—80 мин. Гликолиз выключался бромацетатом, окислительные процессы — цианидом. Глюкоза, меченная C^{14}, была получена при помощи $BaC^{14}O_3$ фотосинтетическим методом. Удельная радиоактивность полученной глюкозы в различных препаратах в среднем составляла 26 000 имп/мин · мг. Радиоактивность белков, нуклеиновых кислот и липидов, выделяемых из асцитических клеток, подсчитывалась торцовым счетчиком после нанесения и подсушивания каждой фракции, полученной в соответствующем растворителе, на фильтровальной бумаге.

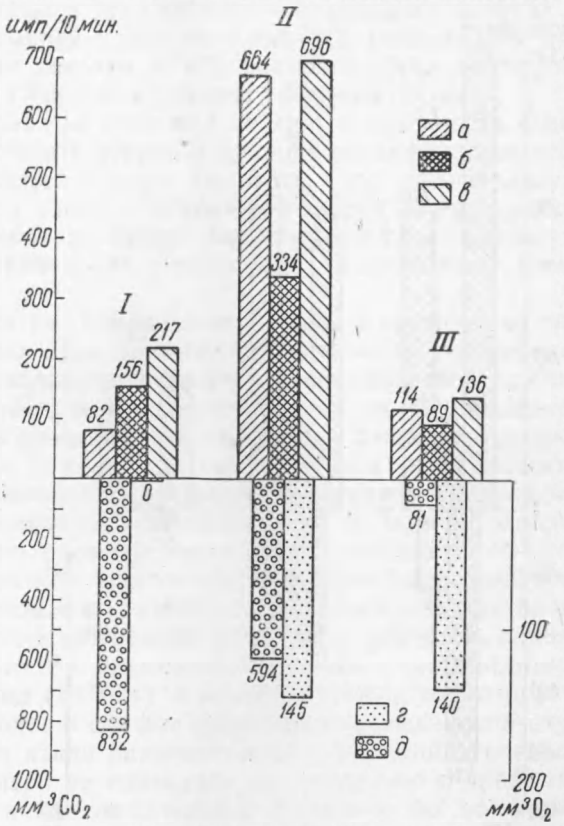


Рис. 1. Влияние дыхания и гликолиза на внедрение радиоактивной глюкозы в различные органические фракции асцитических раковых клеток. Цифры даны в расчете на всю пробу. Дыхание выключалось цианидом, гликолиз — бромацетатом. Сухой вес 18 мг. *а* — белки, *б* — нуклеиновые кислоты, *в* — липиды, *г* — дыхание, *д* — гликолиз

В условиях, приближающихся к физиологическим, т. е. при аэробиозе и наличии в среде глюкозы, когда в опухолевой клетке, наряду с интенсивно протекающим гликолизом, происходит и дыхательный процесс, радиоактивность фракции белков, нуклеиновых кислот и липидов имеет максимальную величину (рис. 1, *II*). При выключении гликолитического механизма монобромацетатом, который в концентрации $7 \cdot 10^{-4}$ *M* резко снижает продукцию углекислоты опухолевыми клетками, не затрагивая в то же время интенсивности поглощения кислорода, радиоактивность всех исследуемых органических фракций резко падает (рис. 1, *III*). Не являясь субстратом ферментативных реакций дыхательного обмена, глюкоза без предварительных этапов ее превращений в гликолитическом цикле не может быть, повидимому, использована опухолевой клеткой в синтезе важнейших органических соединений. Выключение окислительных процессов цианидом заметно увеличивает гликолиз, однако радиоактивность фракции белков, нуклеиновых кислот и липидов продолжает оставаться чрезвычайно низкой (рис. 1, *I*). Совершенно очевидно, что анаэробный гликолитический механизм опухолевой клетки также не способен образовывать необходимые вещества, участвующие в реакциях синтеза. Только при наличии двух одновременно протекающих энергетических процессов молекула глюкозы, претерпевая последовательно превращения в цепи ферментативных реакций гликолиза и подвергаясь дальнейшим превращениям в реакциях окисления, широко используется

в пластическом обмене опухолевой клетки, входя как интегральная часть в белки, нуклеиновые кислоты и липиды.

Изложенные выше факты показывают, что односторонний, чисто энергетический подход в оценке процессов гликолиза и дыхания для сложного явления, каким является опухолевый рост, неприемлем. Если выключение дыхательного обмена не отражается на «энергетическом потенциале» опухолевой клетки, так как в результате усиливающегося гликолиза уровень фосфорилирования остается неизменным ([1]), то с точки зрения пластического обмена выключение дыхания, практически прекращая использование углеводов, являющихся строительным материалом важнейших органических соединений клетки, может резко тормозить опухолевый рост. В этом отношении еще более значительный эффект может быть достигнут при выключении гликолитического механизма опухолевой клетки, так как, наряду с прекращением ассимиляции углеводов, падает, как это было нами ранее установлено, и интенсивность процессов фосфорилирования (на 40%).

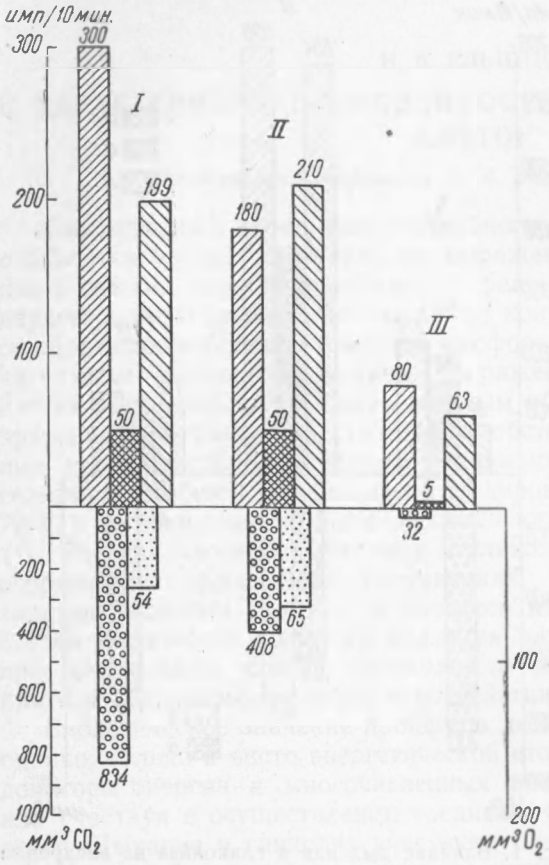


Рис. 2. Включение радиоактивной глюкозы в органические фракции асцитических раковых клеток. Цифры даны в расчете на всю пробу. Дыхание выключалось NaN_3, гликолиз — бромацетатом. Сухой вес 11,9 мг. Обозначения те же

Приведенные выше данные дают некоторые указания о возможном механизме синтеза нуклеиновых кислот в злокачественных новообразованиях. Наблюдаемое резкое снижение радиоактивности во фракции нуклеиновых кислот при выключении гликолиза бромацетатом и при неизменном уровне дыхательного процесса делает вероятным предположение, что синтез пентоз в опухолях происходит путем конденсации 3- и 2-углеродных соединений, а не путем непосредственного окисления глюкозо-6-фосфата. Аэробный гликолиз опухолевой клетки имеет, таким образом, определенный биологический смысл, обеспечивая не только высокий уровень фосфорилирования, но и доставляя необходимый материал, служащий для построения важнейших ее компонентов.

В. А. Энгельгардтом ([4]) дано иное истолкование тому факту, что использование углеводов в синтезе белка опухолевой клетки осуществляется лишь при условии аэробного гликолиза. Согласно этому взгляду, аэробный гликолиз не тождественен по своим химическим этапам с гликолизом анаэробным. Он не является обычным анаэробным гликолизом, «сохранившимся» в аэробных условиях, а качественно отличен от него. Причина этого отличия усматривается в том, что при аэробном гликолизе молочная кислота образуется не в результате дихотомического распада молекулы гексозы на два трехуглеродных фрагмента, а трехуглеродный предшественник молочной кислоты возникает на пути апотомического распада

гексозы. Аэробный гликолиз, согласно этому представлению, является апотомически порождаемым гликолизом.

Штрауб ([5]) усматривает отличие аэробного гликолиза от анаэробного в том, что в связи со своеобразным соотношением активностей двух ферментов — аденозинтрифосфатазы и гексокиназы — в раковых клетках и их пространственной локализацией в клетке создаются условия для интенсивного фосфорилирования гексозы с образованием фруктозодифосфата, после чего дальнейший гликолиз протекает обычным образом.

Имеющийся экспериментальный материал не дает возможности с достаточной определенностью решить вопрос о природе специфических особенностей аэробного гликолиза. Можно полагать, что значительную ясность здесь могли бы внести опыты с гликозой, несущей не диффузную изотопную метку, как это было в наших экспериментах, а меченную локально, в частности с меткой $1\text{-}C^{14}$. Этого рода исследования нами и намечаются.

В заключение остановимся на специальном вопросе о применении так называемых «ассимиляторных» ядов (динитрофенол, азид), употребляемых с целью торможения опухолевого роста ([4, 5]). Специфической особенностью всей этой группы веществ является способность их в определенных концентрациях нарушать процессы сопряженного с дыханием фосфорилирования, не затрагивая с количественной стороны интенсивности потребления кислорода. Выключение дыхательного механизма деминерализации фосфора такими «ассимиляторными» ядами не может, однако, изменить уровень процессов фосфорилирования опухолевой клетки благодаря увеличению гликолитического механизма эстерификации фосфора. Таким образом, попытка применения указанных ядов в качестве факторов, нарушающих энергетику опухолевой клетки, вряд ли может быть оправдана. Неэффективным оказалось и применение типичного «ассимиляторного» яда, каким является азид ($10^{-2}\,M$) в качестве агента, тормозящего процесс использования углеводов в синтезе органических соединений опухолевой клетки. При действии азида радиоактивность фракций нуклеиновых кислот и липидов не только не снизилась по сравнению с пробами, где клетки обладали полноценным гликолизом и дыханием, но во фракции белков было отчетливо заметно увеличение радиоактивности (рис. 2, *I* и *II*). Результат этот может быть объяснен специфичностью действия азида на дыхательный процесс. Обесценивая дыхание в отношении сопряженного с ним фосфорилирования, что внешне проявляется в нарушении пастеровского эффекта, и не затрагивая с количественной стороны потребление клетками кислорода (рис. 2, *I* и *II*), азид тем самым сохраняет одну из существенных функций дыхательного процесса — транспорт водорода через систему промежуточных переносчиков от подлежащих окислению субстратов. Таким образом, в пробах с азидом, наряду с возросшим вследствие нарушенной пастеровской реакции гликолизом, существует и дыхательный процесс, участвующий в конечных этапах окисления молекулы углевода. В этих условиях ассимиляция углеводов в пластическом обмене опухолевой клетки даже возрастает. Приведенные факты заставляют отказаться от попыток тормозить опухолевый рост веществами типа «ассимиляторных» ядов.

Институт онкологии
Академии медицинских наук СССР

Поступило
5 VII 1955

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] Н. В. Ельцина, И. Ф. Сейц, ДАН, **77**, 653 (1951). [2] В. А. Энгельгардт, Усп. совр. биол., **17**, 3, 237 (1944). [3] Isotopic carbon. Techniques in its measurement and chemical manipulation, N. Y.—London, 1949. [4] В. А. Энгельгардт, Докл. на сессии АН СССР по мирному использованию атомной энергии, 1—5 VII 1955, Изд. АН СССР, 1955. [5] Ф. Б. Штрауб (Будапешт). Докл. на VIII Всесоюзн. съезде физиол., биохим. и фармакол. Киев, 19—28 V 1955. [6] L. A. Emge, L. M. Wulff, M. L. Tainter, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **31**, 15 (1933). [7] Е. А. Финкельштейн, Г. Н. Рухов, Мед. журн., **22**, 6, 62 (1952).