

п-1 62

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ СССР

И М Е Н И И . М . С Е Ч Е Н О В А

THE JOURNAL OF PHYSIOLOGY
OF THE USSR



6

ТОМ XXVIII, ВЫП. 6

НАРКОМЗДРАВ СССР • МЕДГИЗ
МОСКВА • 1940

СОДЕРЖАНИЕ

Я. К. Парнас, Применение радиоактивных изотопов для исследования обмена веществ и биохимических превращений	571
Н. Н. Яковлев, Роль инсулина в анаэробной фазе обмена углеводов в мышцах	596
*Н. Н. Яковлев, Роль гипофиза в обмене углеводов в мышцах. Сообщение I . .	605
Н. Н. Яковлев, Роль гипофиза в обмене углеводов в мышцах. Сообщение II	610
Л. Г. Лейбсон и Р. С. Лейбсон, Регуляция содержания сахара в крови в зависимости от полового цикла. Сообщение I	619
Рахиль Лейбсон, Дыхание эритроцитов в эмбриональном периоде	630
С. В. Ильин, О влиянии гормонов коры и мозговой части надпочечников на содержание глутатиона в тканях и крови	642
Н. М. Шамарина, Содержание холинэстеразы в предсердиях эмбриона . . .	650
Е. Я. Гейман, Изменения общего азота и преформированного аммиака в органах кролика в онтогенезе и при беременности. Сообщение I	657
Е. Я. Гейман, Изменения общего азота и преформированного аммиака в органах кролика в онтогенезе и при беременности. Сообщение II	665
Е. Я. Гейман, Изменения общего азота и преформированного аммиака в органах кролика в онтогенезе и при беременности. Сообщение III	674
Е. А. Моисеев и А. В. Тонких, Роль гипофиза в явлениях сна при электрическом раздражении подкорковых узлов	679
Л. В. Попель, Судьба нуклеиновой кислоты в кишечнике и печени по опытам на ангиостомированных собаках	686
А. Ф. Шошин, Различные формы брома в коре и белом веществе головного мозга собаки (ультрафильтруемый и неультрафильтруемый бром)	689
А. Ф. Шошин, Применение микрометода Leipert-Watzlawek для определения брома в плотных субстратах (мозговая ткань)	697
Е. А. Эголинский, Расход энергии при спортивном плавании	700
Хроника	707

-1.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ СССР

ИМЕНИ И. М. СЕЧЕНОВА

ОСНОВАН И. П. ПАВЛОВЫМ в 1917 г.

ОРГАН ВСЕСОЮЗНОГО ОБЩЕСТВА
ФИЗИОЛОГОВ, БИОХИМИКОВ И ФАРМАКОЛОГОВ

ОТВЕТСТВЕННЫЙ РЕДАКТОР

акад. Л. А. ОРБЕЛИ

ЗАМ. ОТВ. РЕДАКТОРА

проф. И. П. РАЗЕНКОВ и проф. С. Я. КАПЛАНСКИЙ

ОТВ. СЕКРЕТАРЬ

С. М. ДИОНЕСОВ

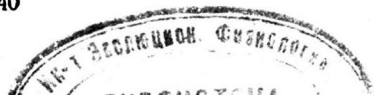
6

ТОМ XXVIII, ВЫП. 1

инв. 1056

НАРОДНЫЙ КОМИССАРИАТ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО МЕДИЦИНСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ
МОСКВА — 1940



ПРИМЕНЕНИЕ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ И БИОХИМИЧЕСКИХ ПРЕВРАЩЕНИЙ¹

Проф. Я. К. Парнас, Львов

Я предполагал в этом докладе осветить биохимические исследования, произведенные при помощи радиоактивного фосфора — искусственного изотопа обыкновенного фосфора. При обработке материала я, однако, нашел невозможным отказаться от одновременного рассмотрения применения в биохимии других изотопов как стабильных природных, так и искусственных, радиоактивных. Различие заключается только в технике их определения, основная же идея одна и та же. В обоих случаях в основу кладется один и тот же принцип; он заключается в том, чтобы снабдить молекулы метками, но таким способом, который не отразился бы на их транспорте, обмене и превращениях в организме и вместе с тем дал бы возможность проследить их, отыскать среди бесчисленных подобных им молекул, входящих в состав организма.

Снабжать меткой молекулы, обменом и превращениями которых мы интересуемся, — идея довольно старая. Чезаре Бертагнини (C. Bertagnini) применил ее в 1856 г. для доказательства того, что именно введенная в организм бензойная кислота превращается в нем в гиппуровую кислоту. Бертагнини установил, что после введения нитробензойной кислоты в моче появляется нитрогиппуровая кислота: если бы превращению подвергалось не введенное в организм вещество, если бы бензойная кислота действовала только как раздражитель, вызывающий абсолютно эндогенное образование гиппуровой кислоты, то следовало бы — даже после введения нитробензойной кислоты — ожидать выделения обыкновенной гиппуровой кислоты. Опыт Бертагнини дал решающий ответ на один из важных вопросов биохимии и в то же время положил основу весьма плодотворному методу применения меченых веществ.

Помимо данных фармакологического и токсикологического порядка, мы обязаны этому методу всем тем, что легло в основу теории окисления жирных кислот, а также многими опытами, составляющими фундамент теории превращений аминокислот.

Опыты этого рода, однако, вскрывают только химические потенции организма. Подвергая пристальному изучению превращения, претерпеваемые веществами, не принадлежащими к числу ингредиентов пищи или самого организма, мы делаем при их истолковании допущение, что аналогичным превращениям подвергаются физиологические составные части организма. В этой гипотезе заключен элемент химической дедукции; это орудие очень ценное, но в некоторых случаях обманчивое, как и обладающая более давней историей дедукция анатомическая.

Для более прямого исследования обмена и превращений природных ингредиентов тканей мы располагаем следующими методами: наблюдение суммарных пищевых и дыхательных балансов; исследование потерь и приращений различных веществ при прохождении крови через органы. Этот метод послужил для установления фактов, составляющих основу

¹ Доклад, прочитанный 21.III.1939 г. на заседании Société de Chimie biologique в Париже; текст пополнен данными исследований, опубликованных до июля 1939 г.

физиологической химии, но в отношении тканевого и межклеточного обмена он не может вывести нас из пределов довольно узких границ.

Чтобы проникнуть в эту область, необходимо прибегать к эксперименту в тесном смысле слова: перегружать организм количествами или концентрациями ингредиентов, выходящими за физиологические пределы, и отыскивать конечные продукты превращения, экспериментировать по этому же принципу над органами *in situ* и, главное, экспериментировать на измененных, альтерированных системах. Такими системами могут служить организмы больные, отравленные или лишенные тех или иных органов, изолированные органы, тканевые срезы, кашицы, экстракты, наконец, в большей или меньшей степени очищенные энзимы и, далее, изолированные системы, в свою очередь подвергнутые действию ядов. В этих альтерированных системах мы исследуем продукты превращения различных ингредиентов организма — как главные, так и побочные — и стараемся связать их с исходными веществами посредством реакций, понятных с точки зрения органической химии. Вот тот путь, идя по которому удастся составить представление о промежуточных реакциях, из которых складываются в конечном итоге балансы реакций, наблюдаемые на целом организме или в менее глубоко измененных системах. Это тот метод, который характерен для сегодняшнего этапа развития биохимии. За пределами физиологических наблюдений и экспериментов эпохи Клода Бернара и Шово (Cl. Bernard, Chauveau) этот путь раскрыл перед нами картины межклеточного обмена негаданной сложности: хорошо известными примерами служат процессы тканевого окисления, мышечной гликогенолиз, алкогольного брожения. Следует признать, что соответствующие представления правдоподобны с химической точки зрения, но им часто недостает прямых физиологических доказательств. Исследователи, непосредственно работающие в этой области, уверены в твердой обоснованности своих представлений, развитие которых еще продолжается, но у физиологов порой есть сомнения, и эти сомнения не всегда являются следствием недостатка доверия или понимания. Желательны новые пути, которые позволили бы нам рассеять эти сомнения.

Нам говорили и до сих пор часто говорят: вы не можете помечать те вещества, превращения которых в организме вы пытаетесь проследить. В последние годы мы получили возможность их метить. Мы можем метить и проследивать ничтожные количества введенного фосфата среди большой массы фосфатов и фосфорных соединений организма. Мы можем пометить при помощи «тяжелого» азота маленькие количества аминокислот, ввести их крысе и отыскать среди аминокислот, входящих в состав белков ее тела. Мы можем метить эти вещества при помощи природных или искусственных изотопов биогенных элементов.

Напомним вкратце основные понятия об изотопах. За немногими исключениями, все элементы — смеси атомов с одинаковым атомным числом, но неодинаковой атомной массой. Число протонов в атомном ядре одно и то же во всех атомах данного элемента, так же как и число электронов, окружающих ядро; что касается нейтронов, то число их ядер может колебаться на несколько единиц, и от этого-то числа зависят различия в строении ядра и атомном весе между изотопами одного и того же элемента. Для обозначения изотопов слева от атомного символа проставляют внизу атомное число, а наверху — атомный вес:

	$^{31}_{15}\text{P}$	$^{14}_7\text{N}$	$^{16}_8\text{O}$	$^{32}_{16}\text{S}$	$^{208}_{82}\text{Pb}$
и их изотопы	$^{32}_{15}\text{P}$	$^{15}_7\text{N}$	$^{18}_8\text{O}$	$^{35}_{16}\text{S}$	$^{203}_{82}\text{Pb}$

В табл. 1 приведены главные природные, стабильные изотопы некоторых биогенных элементов.

Таблица 1

Изотоп	Элемент	% содержания изотопа в природном элементе	% наиболее обогащенного искусственного концентрата
^{18}O	^{16}O	0,02	—
^{17}O	^{16}O	0,04	—
^{15}N	^{14}N	0,368	15
^{13}C	^{12}C	0,7	25
^2H , или D	^1H	0,2	100

Отметим, что фосфор является однородным элементом, не имеющим стабильного, природного изотопа. Отметим также, что удалось получить чистый тяжелый водород или дейтерий и чистую тяжелую воду, но что приготовление чистого тяжелого азота или полное разделение изотопов кислорода еще не осуществлено.

Изотопы одного и того же элемента различаются только по тем свойствам, которые определяются строением ядра и атомным весом. Некоторые ядерные структуры нестабильны. Эта неустойчивость ядра находит выражение в радиоактивности. Один и тот же элемент может иметь изотопы стабильные и радиоактивные: у биогенных элементов изотопы, встречающиеся в природе, стабильны; все радиоактивные изотопы этих элементов — искусственные продукты. Стабильные изотопы можно определить количественно только на основе некоторых свойств, зависящих от их атомного веса и, следовательно, от молекулярного веса их соединений; сюда относятся удельный вес, скорость диффузии, момент движения (mv) разогнанных ионов. Определение D или ^{18}O производится путем измерения удельного веса воды — D_2O , DHO или H_2^{18}O ; для этих измерений применяются методы, поражающие своей точностью и изобретательностью¹. Метод Линдерштрем-Ланга (Linderstroem-Lang) основан на использовании градиента удельных весов по длине вертикальной стеклянной трубки диаметром 25 мм, поддерживаемой при строго постоянной (в пределах $\pm 0,002^\circ$) температуре и содержащей смеси керосина (уд. в. 0,79) с бромбензолом (уд. в. 1,48); на 20 см высоты трубки приходится примерно перепад удельного веса на 0,001². Капелька водного раствора, помещенная в эту жидкость, останавливается на том уровне, на котором удельный вес смеси равен удельному весу капельки: удельные веса различных уровней измеряют, внося в трубку капельки растворов D_2O , концентрация и удельный вес которых точно известны; таким образом, получают эмпирическую шкалу удельных весов и концентраций для смесей D_2O с обыкновенной водой (H_2O). Отсчет уровней производится при помощи кататометра с микроскопом.

Этим способом можно измерить удельный вес нескольких кубиче-

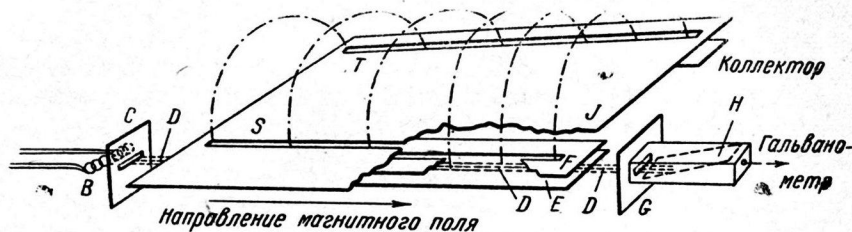
¹ K. Linderstroem-Lang a. H. Lanz, jr., Dilatometric micro-estimation of peptidase activity, Microchimica acta, 3, 210, 1938.

² Для изменения удельных весов, близких к X, наслаивают смесь с удельным весом X—0,01 поверх смеси с удельным весом X÷0,01.

ских миллиметров смеси тяжелой воды с обыкновенной, притом с точностью до пятого или даже шестого десятичного знака, если постоянство температуры поддерживается до $\frac{1}{1000}^{\circ}$. Добавим, что примесь 1% тяжелой воды к обыкновенной повышает ее удельный вес приблизительно до 1,001.

Для количественного определения дейтерия сперва разрушают все органические вещества путем окисления, пользуясь окислителями, не содержащими водорода, и затем отгоняют воду при низкой температуре. Для определения тяжелого кислорода, например, в сульфате, восстанавливают сульфат бария древесным углем, а затем полученный C^{18}O_2 переводят в H_2^{18}O действием Ni при 310° на смесь C^{18}O_2 и водорода. Измеряют удельный вес полученной воды и сравнивают его с удельным весом эталонов.

Определение тяжелого углерода в органических веществах производится путем озоления их по методу Кьельдаля, освобождения азота при помощи гипобромита и определения отношения молекул $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$



к молекулам $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ (поскольку число атомов ^{15}N в препаратах азота невелико, число молекул $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ весьма мало). Измерения производятся путем масс-спектрографии при помощи аппарата Бликнея (Bleakney), модифицированного Шенгеймером (Schoenheimer) и его сотрудниками.

Этот прибор заслуживает более подробного рассмотрения. Возможно, что через несколько лет он станет столь же необходимой принадлежностью оборудования биохимических лабораторий, как оптический спектрограф в наши дни (рис. 1).

Схема масс-спектрометра Бликнея изображена на рис. 1. Пучок электронов, испускаемых накаленной нитью B и прошедший через узкую щель C , пропускается через исследуемый азот между двумя металлическими пластинками E и F . Азот поступает в камеру спектрометра через очень узкий капилляр, под низким давлением, поддерживаемым при помощи большого диффузионного насоса. На пути прохождения электронов образуются положительные ионы двух родов: ионы $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ с массой 28 и ионы $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$ с массой 29. Эти ионы притягиваются отрицательным потенциалом, наложенным на верхнюю пластинку F , и проходят под влиянием его через щель в этой пластинке; прошедшие через щель ионы ускоряются более высоким переменным потенциалом V третьей пластинки J , заставляющим их проходить через вторую щель S . Эти две щели расположены параллельно пучку электронов; аппарат помещен в магнитное поле, параллельное направлению пучка; интенсивность этого поля h строго постоянная. Ускоренные ионы после прохождения через щель S под влиянием магнитного поля загибаются; радиус их траектории выражается уравнением:

$$r^2 = 2 \frac{MV}{eh^2},$$

где M — масса иона; V — ускоряющий потенциал пластинки J , регулируемый наблюдателем; e — заряд электрона; h — сила магнитного поля. В пластинке J на расстоянии 8 см от щели прорезана щель t параллельно первой щели; проходящие через щель t ионы поступают через коллектор в катодный усилитель, чувствительность которого равна 10^{-5} V, что позволяет измерять ионный поток в 10^{-14} A.

Для ионов, прошедших через щель (при постоянных r , e и h), уравнение сводится к $MV = \text{const}$.

Изменяя напряжение V , наблюдатель может доводить до коллектора ионы любой массы. Если при напряжении 69.5 V коллектора достигают через щель

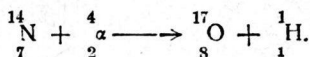
ионы $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$, то при 57,1 V до коллектора доходят ионы $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$; константа прибора равна 1950, если V выражено в вольтах, а M — в единицах атомного веса. Измеряя интенсивность ионных потоков, соответствующих тем вольтажам, которые дают на катодном вольтметре максимумы тока, и вычисляя их отношение R , определяют отношение концентраций молекул с различной массой. В атмосферном азоте находят два максимума, из которых один (при 69,5 V) превышает другой (при 57,1 V) по интенсивности в 135 раз. Следовательно, число молекул $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ в 135 раз больше числа молекул $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$. Зная R , можно вычислить

процент P атомов ^{15}N и процент $(100-P)$ атомов ^{14}N . $P = \frac{100}{2R+1}$; если число молекул обыкновенного азота в 135 раз больше, чем азота полутяжелого, то процент ^{15}N (число атомов ^{15}N на 100) равен 0,368. Предел погрешности этих измерений лежит в пределах 1%.

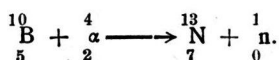
Изотопы природных радиоактивных элементов известны давно: с 1913 г. мы знаем, что атомы с весьма различной средней продолжительностью жизни и — вероятно, как считали в то время, — различным атомным весом, испускающие разные виды излучений (α - или β -лучи), не обнаруживая химических различий; компоненты такой плеяды химическими способами не поддаются разделению. На месте, занимаемом полонием (период полураспада — 136 дней), находятся еще 6 элементов, атомные веса которых отличаются от атомного веса полония до 8 единиц, причем средние продолжительности жизни колеблются от 10—11 секунд до 3 минут. Вокруг таллия, свинца, висмута, рения, радия, актиния, тория, протактиния, урана также группируются плеяды радиоактивных изотопов. Отсюда возникла идея стабильных изотопов — сначала в отношении свинца (Казимир Фаянс), а затем и других элементов; развитию этой идеи способствовали в особенности работы Астона. Не имеют природных стабильных изотопов только элементы гелий, фтор, натрий, алюминий, фосфор, мышьяк, иод, висмут.

Применение природных изотопов биогенных элементов стало возможным с 1933 г. благодаря исследованиям Юрей и Льюиса (H. C. Urey, G. N. Lewis); в настоящее время доступны чистый дейтерий и концентрированные препараты тяжелого азота и тяжелого кислорода; разработаны методы количественного определения изотопов. В том же 1933 г. в Париже Иреной Кюри-Жолио (I. Curie-Joliot) и Фредериком Жолио были открыты искусственные радиоактивные изотопы. Нейтроны, выбитые из атомов бериллия α -частицами, испускаемыми радием, сами α -частицы, протоны и дейтоны (ионы дейтерия), ускоренные последовательными импульсами в циклотроне Лоуренса (E. O. Lawrence) при энергиях порядка 6—9 млн. вольт-электронов, сталкиваясь с атомными ядрами различных элементов, производят в них пертурбации, заключающиеся в обмене протона на дейтон, протона на α -частицу или в подстановке нейтрона на место выталкиваемой α -частицы и т. п. Эти ядерные перегруппировки приводят к образованию новых синтетических элементов, почти всегда нестабильных и, следовательно, радиоактивных. Эти элементы по неизбежности являются изотопами уже известных элементов, за исключением элемента 43, первого эка-марганца, пустовавшее место которого в периодической системе, повидимому, заполнилось совсем недавно синтетическим радиоактивным элементом, и синтетических транс-урановых элементов.

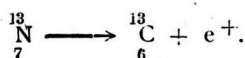
Редзерфорду (Rutherford) первому удалось превратить путем бомбардировки α -частицами азот в водород и кислород (изотоп ^{17}O).



Первым синтезом искусственного радиоактивного элемента, представляющего изотоп стабильного элемента, был синтез азота ^{13}N , осуществленный И. Кюри-Жолио и Ф. Жолио:



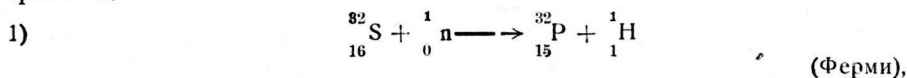
Этот азот быстро превращается в стабильный $^{13}_6\text{C}$:



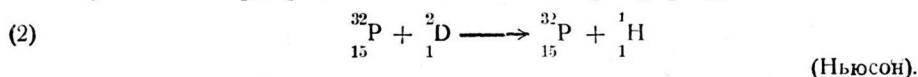
В сумме мы имеем синтез одного из изотопов углерода с промежуточным образованием радиоактивного изотопа азота ^{13}N .

В общей сложности теперь известно около 300 новых синтетических элементов; литература охватывает примерно 400 сообщений, из коих первые 3 относятся к 1933 г.

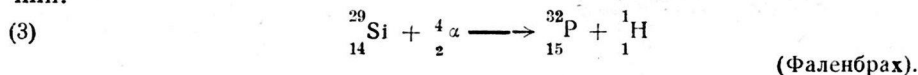
Так как радиоактивный фосфор, синтезированный Э. Ферми (E. Fermi), представляет для нас особый интерес, приводим примеры синтеза этого элемента. Его можно приготовить путем бомбардировки серы нейтронами:



или путем бомбардировки обыкновенного фосфора дейтонами:



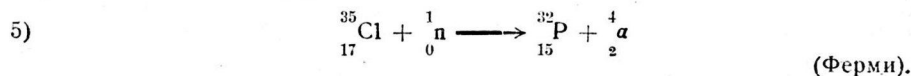
Радиофосфор можно также получить, обстреливая α -частицами кремний:



Радиофосфор можно также получить из фосфора при действии нейтронов с испусканием β -лучей:



Наконец, он образуется при действии нейтронов на хлор, причем выталкиваются γ -частицы:



Радиофосфор, средняя продолжительность жизни которого составляет 14,8 дня, превращается в серу, испуская электроны, согласно уравнению:



Искусственные радиоактивные элементы обладают, как правило, очень кратковременной продолжительностью существования. Но что оказалось существенным для биологических исследований, это то, что среди двух десятков искусственных изотопов с периодом полураспада свыше суток имеется около 10 биогенных элементов; ^{22}Na ; ^{35}S ; ^{32}P ; ^{48}V ; ^{52}Mn ; ^{59}Fe ; ^{60}Co ; ^{60}Zn ; ^{74}Os ; Mo ; J . Кроме того, в числе их находятся следующие элементы, не имеющие природных стабильных изотопов: натрий, фосфор, мышьяк, йод. В табл. 2 сведены данные о средней продолжительности существования радиоактивных биогенных изотопов.

Практически для получения радиоактивного фосфора пользуются методом (1) — при помощи радия и методами (2) и (4) — при помощи цик-

Таблица 2. Средняя продолжительность жизни изотопов биогенных элементов

^{22}Na : 3 года; ^{24}Na : 15 часов	^{60}Co : 2 года
^{35}S : 80 дней	^{60}Zn : 12—14 дней
^{32}P : 14,8 дня	^{74}As или ^{76}As : 13—13,5 дня
^{42}K : 12,8 часов	^{77}As : 50 дней
^{48}V : 16 дней	Mo : 50—80 дней
^{52}Mn : 5 »	J : 13 дней
^{59}Fe : 40 »	

лотрона. Используя 100 мг радия, помещенных в платиновую трубочку с солью бериллия, можно приготовить $10^{-5} \gamma^{32}\text{P}$ в день. Платиновая трубочка, покрытая парафином, в латунной оболочке погружается в баллон с несколькими литрами сероуглерода; содержащаяся в последнем сера под влиянием испускаемых нейтронов превращается в радиоактивный фосфор. Последний находится в сероуглероде и в налете, который под влиянием излучения откладывается на стенках баллона. Путем окисления азотной кислотой образовавшийся фосфор переводят в H_3PO_4 , добавляют некоторое количество фосфата натрия и осаждают радиоактивный фосфат вместе с добавленным обыкновенным, в виде фосфата бария, который затем переводят в фосфат натрия.

Можно также отложить продукт бомбардировки сероуглерода на медных электродах и затем перевести его в желаемую форму.

Количественное определение радиоактивного фосфора производится путем измерения числа испускаемых электронов на счетчике Гейгера. Операция эта доведена до крайней простоты путем применения счетчиков с катодным усилителем и автоматической регистрацией разрядов.

Пользуясь 1 г радия, получают $10^{-10} \text{ г}^{32}\text{P}$ со средней продолжительностью жизни 14,8 дня. При помощи циклотронов и других мощных генераторов нейтронов можно получить препараты с активностью, в десятки тысяч раз более высокой¹. Но распад 1 атома в секунду позволяет открыть присутствие $6 \cdot 10^{-9} \gamma^{32}\text{P}$, т. е. $1,66 \cdot 10^{-6}$ от того количества, которое находится в равновесии с 1 кюри. Этот пример дает представление о степени чувствительности метода.

В чем заключается принцип биохимических исследований с применением изотопных индикаторов? Поведение молекул идентичных тел, содержащих изотопы одного и того же элемента, в химических реакциях почти идентично. Это положение сохраняет силу и в отношении биохимических процессов, протекающих в организме или в альтерированных биологических системах, в тех пределах, пока физические свойства среды не претерпевают существенных изменений в результате наличия изотопа, как это имеет место, например, в растворах с высокой концентрацией тяжелой воды. Но и в случае дейтерия организмы не замечают присутствия его в количестве нескольких процентов, будь то в водороде поглощаемой воды или в органических соединениях. Между тем разница между дейтерием и водородом, равно как их производными, значительно больше, чем между парами изотопов любых других элементов: изотопы азота, кислорода, фосфора по своим физическим свойствам различаются гораздо меньше.

Цыпленок, вылупившийся из яйца, содержащего 1% тяжелой воды, ни в чем, кроме изотопного состава своей воды и некоторых органиче-

¹ При помощи циклотронного метода (реакция 2) Уильсон и Камен (Wilson, Камен), действуя дейтонами на фосфат железа, получали в один день препараты ^{32}P в 10 милликюри; эти авторы считают возможным приготовление препаратов с активностью в несколько милликюри на 1 мг фосфора (цитировано по W. B. Mann, «Nature», 143, 585, 1939). Подобные препараты могут быть использованы с терапевтическими целями.

ских соединений, не отличается от обыкновенного цыпленка, вылупившегося из яйца с обычной водой, содержащей только $\frac{1}{5000}$ окиси дейтерия.

Организмы и ферменты не делают разницы между изотопами одного и того же элемента и, главное, не разделяют их. Уверенность в этом основана на наблюдениях, что вода, полученная путем сжигания природных органических веществ или отогнанная из жидкостей организма, содержит дейтерий и водород точно в таком же соотношении, как и воды минерального царства, а азот, полученный при сжигании белков, содержит столько же ^{15}N , как и атмосферный азот (0,368%). Если ввести в тело животного синтетическую аминокислоту, аминогруппа которой содержит ^{15}N в избытке по сравнению с нормальным содержанием его, то всякое азотистое вещество, изолированное затем из тканей этого животного и содержащее тяжелый азот в избытке против нормальной концентрации, должно было образоваться — непосредственно или косвенно — за счет введенных аминогрупп.

С радиоактивным фосфором дело обстоит еще проще; его обнаруживают по его радиоактивности в очень незначительных количествах. Достаточно ввести животному несколько миллиграммов фосфата, содержащего ничтожные количества радиофосфора (меньше $\frac{1}{1000000}$ γ), чтобы обнаружить меченый радиоактивный фосфор как в органах и тканевых жидкостях, так и в выделенных из них фракциях неорганических и органических фосфорных соединений.

Ничтожные количества ^{32}P , заключенные в молекулах фосфорных соединений, не оказывают влияния на биохимические процессы; эти молекулы просто следуют в своих превращениях за молекулами, содержащими стабильный фосфор ^{31}P . Однако атомы ^{32}P позволяют нам следить за обменом и превращениями молекул, в состав которых они входят. Согласно сравнению, принадлежащему Г. Хевеси, они подобны радио, содержащемуся в светящихся цифрах и стрелках часов, который позволяет нам их видеть, нисколько не отражаясь в то же время на работе часового механизма.

Привожу пример постановки опыта с меченым фосфором, взятый из работы Хивитца и Хевеси (O. Chievitz, G. Hevesy). Пробу радиоактивного фосфора сохраняют в качестве эталона; 0,5 мг его вводят *per os*, например, крысе. Через 3 недели из собранных выделений, жидкостей и тканей убитого животного был выделен фосфор в виде фосфата кальция; в эту же форму переведен фосфор эталона с целью сравнительного измерения радиоактивности этих препаратов. При сопоставлении активности препаратов с активностью эталона было найдено: в моче — 26,3% суммарной активности эталона, в кале — 31,8%, в скелете — 24,8%, в мышцах и жире — 17,4%, в печени — 1,7%, в головном и спинном мозгу — 0,1%, в почках и поджелудочной железе — 0,1%, в зубах (резцах) ¹ — 2,8%.

Эти цифры отображают распределение введенного меченого фосфора в организме крысы по истечении 3 недель; спонтанный распад радиоактивного элемента в наш расчет не входит, так как он элиминирован путем сравнения с сохранившимся эталоном; цифры, относящиеся к активности изотопа, сопутствующего фосфору, отражают распределение всей массы введенного в организм фосфора.

Итак, крысе, содержащей около 1,5 кг фосфора, было введено 0,0005 г меченого фосфора; из этого введенного количества, и именно из него, через 3 недели в скелете оказалось 0,00012 г, в резцах — 0,000014 г, в печени — 0,0000085 г; с мочой и экскрементами выделилось 0,00024 г. Этим методом, следовательно, можно проследить в жидкостях и тканях путь введенного фосфата среди трехтысячекратного количества его, входящего в состав организма. Чтобы выразить проникновение введенного фосфата в ткани и фракции из них, часто пользуются понятием удельная активность, т. е. процентным отношением активности, найденной в 1 мг фосфора, содержащегося в исследуемом объекте —

¹ Эта цифра взята из другого опыта.

органе, жидкости или фракции, к активности введенного фосфора. Под относительной удельной активностью разумеют отношение данной удельной активности к произвольно выбранной удельной активности: возьмем, например, за единицу удельную активность неорганического фосфата кровяной плазмы у человека через 2 часа после инъекции меченого фосфорнокислого натрия; относительная удельная активность той же фракции 2 часами позже составит 0,21.

Перейдем от изложения методов к их применениям и к полученным результатам. Наиболее известны и дальше всего подвинулись исследования по обмену веществ и биохимическим превращениям, выполненные при помощи дейтерия: они послужили темой ряда превосходных обзоров. Исследованиям Хевеси и Гофера (Hofer), Верзара (Verzar), Крога и Уссинга (Krogh, Ussing) мы обязаны точными данными по вопросам проницаемости, скорости обмена воды, средней продолжительности пребывания ее в организме. У человека среднее время пребывания молекулы воды в теле равно приблизительно 14 суткам. Применимость тяжелой воды для изучения процессов обмена веществ ограничена в силу спонтанного, независимого от энзиматических факторов обмена между дейтерием и водородом, который имеет место всюду, где происходит хотя бы самая незначительная диссоциация водорода. Водороды карбоксильных, гидроксильных и аминогрупп, а также и водороды, связанные с углеродом, находящимся рядом с карбонильной группой (там, где возможна энолизация), замещаются без участия энзимов на дейтерий тяжелой воды и обратно, в соответствии с законом действующих масс. Например, в ацетоне, растворенном в D_2O , обмениваются все атомы водорода, но дейтеронированный продукт в свою очередь отдает воде связанные в органической молекуле атомы дейтерия путем химического обмена, протекающего без участия энзимов. Такая промывка большими количествами воды — необходимая предосторожность, которая всегда применяется, когда дело идет о выявлении эффектов лабильности и обмена атомов водорода в результате ферментативных процессов обмена веществ.

Р. Шенгеймеру и Д. Риттенбергу (D. Rittenberg) мы обязаны прекрасными исследованиями о метаболизме жирных кислот и стеридов. Содержание D_2O в воде организма мыши поддерживалось на уровне 1,5%; животные получали пищу, богатую углеводами: образовавшиеся жиры содержали дейтерий, не поддающийся удалению путем промывки; можно было подсчитать, что 15% содержащегося в них H^3D происходят из воды, а 85% — из углеводов. Мышам с дейтеронированным жиром давался менее обильный пищевой рацион, достаточный, однако, для поддержания постоянства веса: половина содержащегося в жире дейтерия исчезала за 3 дня. 3 дня — такова, повидимому, средняя продолжительность существования молекулы жирной кислоты в организме мыши при рационе, достаточном только для поддержания веса. Мышам при недостаточном пищевом рационе вводились дейтеринированные жиры: через 6 дней 50% дейтерия, введенного в виде жира, можно было обнаружить в жирах животного; это доказывает, что пищевые жирные кислоты не подвергаются немедленному использованию без предварительного поступления их в жировую ткань.

Дейтерий, введенный животному в виде насыщенных жирных кислот, может быть обнаружен во фракции ненасыщенных жирных кислот, дейтерий же ненасыщенных дейтеронированных жирных кислот обнаруживается в насыщенной фракции. Это доказывает взаимное превращение насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в теле мыши. Меж-

ду тем в животном организме нет энзима, способного лабильзовать «неотмываемые» водородные атомы в жирных кислотах и вызывать их замену. Это недавно доказано по отношению к куриному эмбриону (строго говоря, имеет силу пока только для этого организма). В курином зародыше, развивающемся в среде, богатой тяжелой водой, впрыснутой в яйцо, жирные кислоты не содержат ни следа дейтерия.

Мы привели весьма важные данные, которые свидетельствуют о точности метода, превосходящей все то, что можно узнать путем изучения балансов обмена или посредством опытов с применением галоидозамещенных жирных кислот. Когда новый метод приносит подтверждение того, что предполагалось и раньше на основе результатов, полученных при помощи других методов, это делает честь прозорливости ученых, еще не располагавших столь совершенными орудиями исследования. В то же время биохимия получает возможность опираться на более непреложные факты. Констатация же метаболических превращений жиров у животных, не теряющих и не откладывающих жира, превращений, протекающих в самих жировых резервах, представляет новые для физиологии данные.

Применение дейтерия в качестве индикатора, вносимого во внутреннюю среду, приводит также к открытию совершенно новых фактов и тем самым к постановке новых проблем. Так, например, Уссинг нашел, что гликоген, образующийся из фруктозы в организме крысы, в жидкостях которой поддерживается 1—3% концентрация D_2O , содержит на каждый остаток глюкозы 3 атома неотмываемого дейтерия. Это наблюдение, очевидно, наводит нас на след механизма образования гликогена из фруктозы, но мы еще не знаем, как истолковать этот след.

Р. Шенгеймеру и его сотрудникам мы обязаны также изысканиями по межклеточному обмену аминокислот с применением тяжелого изотопа азота. Как указано выше, атмосферный азот неизменно содержит на 100 000 атомов азота 368 атомов ^{15}N ; то же самое соотношение находят и в азоте аминокислот в белках, равно как в любых имеющихся в организме азотистых соединениях.

Из аммиака, содержащего тяжелый азот в концентрации 7% от общего азота, Шенгеймер и его сотрудники синтезировали аммонийные соли, 1-лейцин и рацемический тирозин. Они установили, что азот аминокислот в аминокислотах не обменивается на тяжелый аммиак даже при нагревании до 100° в водной среде; при тех же условиях азот мочевины подвергается незначительному обмену. Если у животного после введения препаратов, содержащих избыточный тяжелый азот, наблюдается обмен обыкновенного аминокислота в аминокислотах на азот, обогащенный ^{15}N , то это доказывает либо замену аминокислот, либо образование — прямое или косвенное — целых новых молекул за счет введенных соединений.

Крысе давался рацион, включающий 16% обыкновенного казеина с добавлением цитрата меченого аммония и бензойной кислоты. Выведенная с мочой гиппуровая кислота содержала избыточный тяжелый азот. Это — доказательство образования гликокола из аммиака.

Молодые крысы получали также бедный белками рацион с меченым лимоннокислым аммонием. Из белков убитых животных были изолированы гликокол, глутаминовая и аспаргиновая кислоты, пролин и гистидин, содержащие избыток тяжелого азота; эти аминокислоты обменивали в организме свои аминокислотные группы — некоторые, быть может, прямо на аммиак, другие, вероятно, на аминокислотные группы непосредственно образовавшихся аминокислот, т. е., по всей вероятности, вновь образованной глутаминовой кислоты. Ли-

з и н этими превращениями не затрагивается, а р г и н и н — только в части молекулы, отщепляемой действием аргиназы, тогда как содержащийся в нем о р н и т и н не претерпевает никакого замещения. Обмен сильнее всего затрагивает простейшие аминокислоты, дикарбоновые кислоты и амидный азот белковой молекулы.

После введения крысе синтетического тирозина с меченым азотом половина меченого азота вскоре появляется в моче, поскольку тирозин был рацемическим. Остальной азот удерживался в тканях, причем его содержалось в печени больше, чем в прочих тканях. Свыше 8% введенного тирозина находится в белках животного, но азот его обнаруживается также в других аминокислотах — в тех, которые обменивали свою аминогруппу в опытах с меченым аммиаком.

Меченый гистидин, изолированный из белков крыс, получавших меченый аммиак, содержит тяжелый азот только в α -аминогруппе, тогда как имидазоловое ядро от него совершенно свободно. В то же время креатин мышц и гемин красных кровяных телец крыс, получавших достаточный рацион с добавлением меченого лимоннокислого аммония, также содержали избыточный тяжелый азот.

Нет надобности подчеркивать красоту и значимость этих экспериментов. Они содержат точные доказательства того, что мы себе представляли в отношении обмена аминокислот, — физиологическое обоснование наших догадок по опытам *in vivo* и ответ на законные сомнения. Напомним о сомнениях, высказанных по поводу приложимости к живому организму теории образования мочевины, выдвинутой Кребсом и Гензелейтом (Krebs, Henseleit). Итак, оказалось, что аминогруппы аминокислот в белках замещаются за счет аммиака, они взаимозаместимы, но это не относится к ω -аминогруппам, а также к атомам азота в гетероциклических ядрах экзогенных аминокислот. Введенный тирозин входит как таковой в тканевые белки, но часть этой аминокислоты обменивает свой азот с другими аминокислотами. Аминогруппа лизина, — аминокислоты, не синтезируемой в животном организме, не обменивается: в аргинине заменяется только азот группы NH_2 . $\text{C}(\text{NH})$ — отщепляемой действием аргиназы; орнитинная часть молекулы аргинина остается неизменной. Амидные группы, соединенные с непептидными карбоксилами дикарбоновых кислот, обмениваются быстро.

Все то, о чем можно было заключить на основании прекрасных опытов Г. Эмбдена, Кноопа, Кребса, Браунштейна по межклеточному обмену аминокислот в альтерированных системах, а также на основании исследований Осборна и Менделя на живых животных об эндогенных и экзогенных (незаменимых и заменимых) аминокислотах, нашедших столь замечательное развитие и завершение в недавних работах Розе (W. Rose), — все это получает законную силу благодаря изложенным выше опытам, которые ни в какой мере не нарушают физиологических превращений, но позволяют наблюдать путь азота, введенного в желаемой форме, не извращая его физиологической судьбы ни в качественном, ни в количественном отношении.

Но это еще не все: описанные опыты ведут нас дальше, за пределы всего, что поддавалось обнаружению посредством классических методов. В совсем недавних работах Шенгеймер, Ратнер и Риттенберг применили синтетический 1-лейцин, меченный в углеродной цепи дейтерием и в аминогруппе тяжелым азотом. Белки кишечника, печени и других органов крысы, которой в течение 3 дней вводилась эта аминокислота в добавление к достаточному пищевому рациону, были подвергнуты анализу. Было получено по три препарата лейцина, аргинина, тирозина, глутаминовой и аспарагиновой кислот, по два препарата лизина и гли-

кокола и один препарат орнитина, приготовленный из аргинина печени. Все эти тела, за исключением лизинов, содержали тяжелый азот, но концентрация изотопа, послужившего для маркировки азота, была значительно выше в лейцине, чем во всех остальных аминокислотах. Лейцин из белков содержал, естественно, меньше D и ^{15}N , чем введенный лейцин, но изменилось также отношение $\text{D}/^{15}\text{N}$: выделенный лейцин содержал меньше тяжелого азота по отношению к дейтерию, чем принятый с пищей лейцин. Это не может быть объяснено разбавлением меченого лейцина обыкновенным лейцином белков, а только лишь тем, что введенный лейцин обменял часть своих аминогрупп на обыкновенные аминогруппы, происходящие из других аминокислот.

Вот совсем поразительный факт: непрерывная и быстрая обменная циркуляция аминогрупп между аминокислотами тканевых белков! Напомним еще, что эта смена аминогрупп возможна только при разрывании пептидных связей. Перед нами здесь раскрывается неожиданная картина превращений, протекающих в недрах самих белков, заключенных в живых тканях, — превращений, которые стали доступны наблюдению благодаря новому методу исследования, тогда как для классических методов они были недостижимы. Повидимому, белки — или некоторые из белков — претерпевают гораздо более оживленные и непрерывные перегруппировки, чем это можно было заподозрить. Но каковы эти белки? Вероятно, не все. Здесь перед нами встает целый ряд новых проблем.

Совместно с Т. Коржибским (Т. Korzybski) мы изучали при помощи радиофосфора ^{32}P аналогичные вопросы, имеющие отношение к межклеточному углеводному обмену. Свыше 4 лет назад в докладе, читанном в Брюсселе, я дал обзор о межклеточных превращениях углеводов в мышце. В картине гликогенолиза, уже в то время достаточно сложной, но с тех пор еще значительно усложнившейся, одно вещество занимает центральное положение, это — аденозинтрифосфорная кислота, которая вместе с аденозиндифосфорной кислотой и адениловой кислотой выполняет функцию коэнзима процессов фосфорилирования и переноса фосфатных групп. При обмене веществ в мышце аденозинтрифосфорная кислота служит донатором фосфатных групп, в качестве акцепторов которых выступает либо креатин, либо фруктозомонофосфорный эфир; аденозиндифосфорная кислота служит при фосфорилировании, связанном с оксидоредукцией, переносчиком фосфатной группы, которую она принимает от 1,3-дифосфоглицериновой кислоты, недавно открытой Негелейном (Negelein). Наконец, адениловая кислота играет роль акцептора фосфатных групп, отдаваемых фосфокреатином или фосфопировиноградной кислотой; она служит, кроме того, активатором при фосфороллизе гликогена и образовании гликогена из эфира Кори (глюкопиранозо-1-монофосфорного эфира). Все, что нам известно на основании опытов с альтерированными системами, указывает на подвижность двух фосфатных остатков, присоединяемых адениловой кислотой. Можно ли эту подвижность доказать наблюдениями или опытами на живом организме? Можно ли получить физиологическое подтверждение результатов, добытых при помощи альтерированных систем — экстрактов и ферментов, в большей или меньшей степени очищенных?

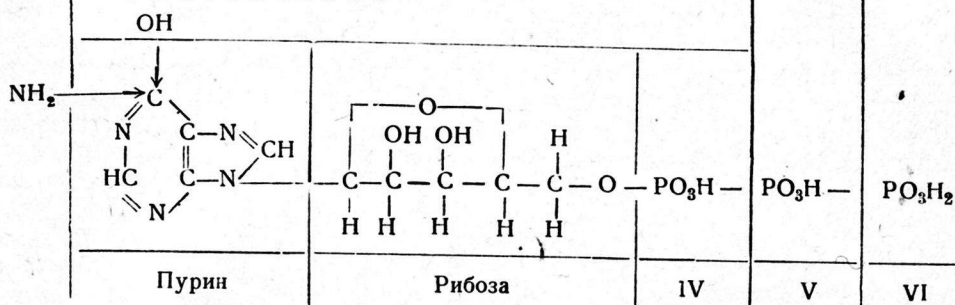
Мы впрыскивали кроликам фосфат натрия, меченный посредством $\text{Na}_2\text{H}^{32}\text{PO}_4$; через определенное время животное убивалось и производилось определение меченого фосфора в органах и в органических фракциях из мышечной ткани. Подробности этих опытов приведены в недавно опубликованном сообщении. Через 30 минут меченый фосфор обнаруживался в составе фосфата, отщепляющегося от аденозинтри-

Кислоты

I. Аденозинтрифосфорная

II. Адениловая

III. Инозиновая



фосфорной кислоты при щелочном гидролизе; удельная активность этой фракции составляет 70% от удельной активности находящегося в мышце неорганического фосфата. Фосфор инозиновой кислоты (IV), полученной путем дезаминирования содержащейся в аденозинтрифосфорной кислоте адениловой кислоты, совершенно не содержит в этот момент меченого фосфора, и только по истечении нескольких часов (у голубя) или нескольких дней (у кролика) в этой фракции появляется слабая активность, указывающая на медленное образование молекул адениловой кислоты. Средняя продолжительность существования адениловой кислоты, входящей в состав молекулы аденозинтрифосфорной кислоты, повидимому, — порядка 1 месяца, тогда как два фосфора (V и VI) аденозинтрифосфорной кислоты, носителем которых служит адениловая кислота, обновляются очень быстро. Этим путем в области углеводного обмена, как и в случае азотистого обмена, удастся мало-помалу добыть физиологические доказательства тех превращений, которые принимаются биохимиками. Приведенный мной опыт — лишь одна из первых попыток в этом направлении. Будем надеяться, что другие, более совершенные опыты позволят нам подвести прочную базу под наши представления о механизме гликогенолиза и внести в них поправки там, где это окажется нужным.

В наших исследованиях, проведенных совместно с Барановским, Остерном, Коржибским и Гутке, мы пользовались преимуществами тесного сотрудничества с Институтом теоретической физики Копенгагенского университета, возглавляемым проф. Нильсом Бором. Копенгагенский институт теоретической физики за последние годы, благодаря работам Г. Хевеси и его учеников, а также благодаря сотрудничеству его группы с выдающимися физиологами, работающими в Копенгагене, стал исходным центром биохимических изысканий при помощи радиофосфора. Напомним, что в те времена, когда были известны только природные радиоактивные изотопы свинца и висмута, Хевеси первый использовал их в качестве индикаторов для химических, физических, биологических и медицинских исследований. Ему же мы обязаны первыми попытками использования дейтерия, тяжелого кислорода и радиоактивного фосфора, а также наиболее многочисленными и важными работами, проведенными при помощи последнего. Обзор этих работ приведен ниже.

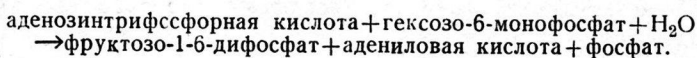
Проф. Нильс Бор и Г. Хевеси любезно предоставляли нам меченый

Само приготовление этих веществ дало нам некоторые доказательства механизмов их образования, которые до того оставались гипотетическими. В случае реакции между фосфопировиноградной и адениловой кислотами с образованием аденозинтрифосфорной кислоты нами принимался прямой перенос фосфатных остатков, без промежуточного освобождения минерального фосфата:

2-фосфопировиноградная кислота + адениловая кислота = аденозинтрифосфорная кислота + 2-пировиноградная кислота (см. табл. 3).

Неоспоримых доказательств этого механизма, хотя и весьма вероятного, мы не могли привести. Приготавливая аденозинтрифосфорную кислоту при помощи меченой фосфоглицериновой кислоты, мы изолировали также фракцию неорганического фосфата, присутствовавшего в пробе наряду с аденозинтрифосфорной кислотой. В состав этого фосфата входили фосфат, неполностью удаленный из энзиматического экстракта при диализе, а также фосфат, отщепившийся во время опыта от фосфоглицериновой и аденозинтрифосфорной кислот. Активность этого фосфата была ниже активности фосфата из фосфоглицериновой кислоты и из лабильных групп аденозинтрифосфорной кислоты, тогда как последние две фракции имели одну и ту же активность. Если бы фосфор аденозинтрифосфорной кислоты при своем переходе от фосфорноглицериновой кислоты проходил через неорганическую форму, то он неизбежно должен был бы по активности совпадать с минеральным фосфатом.

То обстоятельство, что активность минерального фосфата целиком переходит на эфир Эмбдена, образующийся при действии мышечных энзимов на гликоген и на этот фосфат, доказало нам, что образование данного эфира в среде, абсолютно не содержащей аденозинтрифосфорной кислоты или тел, из которых последняя могла бы образоваться, представляет собой именно тот процесс, который мы с Барановским описали в 1935 г. под названием фосфоролиза гликогена. Точно так же образование фруктозодифосфорного эфира из обыкновенного монофосфорного эфира Эмбдена и аденозинтрифосфорной кислоты с мечеными лабильными фосфорными остатками послужило подтверждением механизма, сформулированного Остерном, Гутке и Тершаковец в 1936 г.:



Меченый фосфат аденозинтрифосфорной кислоты почти целиком находится в фосфате, отщепляемом от эфира Гардена-Ионга при 30-минутном гидролизе однонормальной соляной кислотой при 100°, т. е. в фосфатном остатке, связанном с углеродом 1. Именно сюда присоединяется фосфатная группа, переходящая с аденозинтрифосфорной кислоты на гексозо-6-монофосфорный эфир. Перешедший с аденозинтрифосфорной кислоты фосфат имеет ту же удельную активность, как и подвижный фосфат в молекуле донатора; присутствующий минеральный фосфат лишен активности, следовательно, перенос совершается непосредственно.

Приведу вкратце еще несколько примеров доказательств, осуществленных посредством метода меченых молекул. Можно было задать вопрос, не принимает ли фосфор адениловой кислоты участия в транспорте фосфатных остатков при гликогенолизе, хотя упомянутые выше опыты *in vivo* противоречат этому допущению. Вот прямое доказательство: из меченой адениловой кислоты меченый фосфор не освобождается при действии на нее мышечной кашицы, в которой протекают гликогенолитические превращения. Но этот же фосфор принимает участие в гликолизе при алкогольном брожении, где он обнаруживается во фракции гарден-ионговского эфира в опытах с добавле-

нием меченой адениловой кислоты к плазмолизированным дрожжам или лебедевскому мацерационному соку во время сбраживания сахаров.

Важные детали того же порядка выяснены недавними работами О. Мейергофа и его сотрудников по отношению к механизму окислительно-восстановительного фосфорилирования при участии козимазы.

Органические соединения с меченым фосфором могут быть полезны и для опытов иного рода. Меченый эфир Эмбдена был использован Хевеси и Атенем в опытах, касающихся обмена фосфором между кровяной плазмой и эритроцитами. В предшествующих работах они установили наличие быстрого обмена между добавленным к плазме меченым фосфатом и фосфатом кровяных телец, обмена, за которым следует эстерификация фосфата, проникшего внутрь эритроцитов. Возможно ли, что последовательность — обратная, и прониканию предшествует образование эфира, поступающего затем в кровяные тельца? Во всяком случае проникает в эритроциты не гексозомонофосфорный эфир: меченый фосфор этого эфира поступает в эритроциты в 10 раз медленнее неорганического фосфата; этот эфир с большой скоростью распадается в кроличьей крови, фосфор его быстро исчезает из кровяного русла. Это новое орудие эксперимента позволяет провести новые решающие исследования по ряду проблем тканевого и клеточного обменов, в отношении которых было признано — на мой взгляд слишком поспешно — участие процессов фосфорилирования сахаров или эстерификации фосфата.

В добавление к этому обзору позволю себе одно замечание: было бы ошибкой думать, что применение меченых молекул избавляет нас от необходимости вести тщательнейшую химическую работу. Оно требует быстрых темпов работы, но очистка получаемых веществ должна быть чрезвычайно строгой. Новый метод освобождает нас только от необходимости добиваться количественного выхода анализируемых веществ, что в биохимических исследованиях часто составляет труднейшую или неосуществимую задачу. При этом методе основу наших суждений о том, что произошло в объекте, составляют не убыли и нарастания количества, а изменения качества участвующих веществ, тогда как количества их иногда остаются неизменными: это качество определяется количеством вошедшего в вещество изотопа. Когда мы пытаемся установить обновление адениловой кислоты в мышцах кролика, было бы тщетным стремиться к полному извлечению этого вещества из ткани; но для наших целей достаточно изолировать продукт его дезаминирования — инозиновую кислоту — и очистить бариевую соль последней путем повторной перекристаллизации. Требуется только получить пробу очень чистого продукта в количестве, достаточном для измерения активности.

Применение радиоактивных индикаторов не раз помогало нам вскрыть непредвиденные источники ошибок. Работая с меченой адениловой кислотой, мы обнаружили радиоактивность, упорно сохранявшуюся в осадках фосфорнокислой аммиак-магнезии, активность, исчезающую лишь после нескольких перекристаллизаций. Причиной ее оказалась ничтожная примесь магниезальной соли инозиновой или адениловой кислоты, которая, однако, может внести в результаты громадную погрешность, если в опыт была взята адениловая кислота, обладающая сильной радиоактивностью. В данном случае присутствие адениловой кислоты было подтверждено обнаружением пентозы. Осаждение фосфорнокислой аммиак-магнезии входит в методику обычного анализа фосфорных фракций тканей: к счастью, фосфор адсорбированной адениловой кислоты в силу стойкости этого соединения по отношению к

кислотному гидролизу не отражается на результатах, если за этим осаждением следует колориметрическое определение фосфата.

Мне осталось вкратце осветить выдающиеся работы Г. Хевеси и его учеников А. Х. Атена, Л. Ган, Г. Леви, О. Г. Реббе (А. Н. W. Aten, L. Hahn, H. Levi, O. H. Rebbe), а также виднейших датских физиологов и медиков, принявших участие в этих работах — физиологов А. Крога и Э. Лундсгаарда (A. Krogh, E. Lundsgaard), хирурга о Хивитца (O. Chivitz), стоматолога Ж. Ж. Хольса (J. J. Holst), дерматолога С. Ломгольта (S. Lomholt). Необходимо упомянуть также о тех ученых, которые предприняли аналогичные попытки в других странах и своими трудами содействовали выяснению физиологической химии фосфора: Камилло Артома (Camillo Artom) в Италии; американских исследователях, группирующихся вокруг лаборатории по изучению радиоактивности в Беркли, возглавляемой Э. О. Лоуренсом, изобретателем циклотрона; И. Л. Чайкове, И. Перльмане, С. Рубене, Д. М. Гринберге, Дж. Г. Гамильтоне, Г. Борсуке, С. Куке, С. Гертце (I. L. Chaikoff, J. Perlmann, S. Ruben, D. M. Greenberg, J. G. Hamilton, H. Borsook, S. Cook, S. Hertz) и их сотрудниках; Э. Чапгаффе (E. Chargaff) в Нью-Йорке и Б. С. П. Янсене и Ж. Л. Дольсе (B. C. P. Jansen, M. J. L. Dols) в Амстердаме.

Исследования этих ученых, важнейшие результаты которых я хотел бы осветить, охватывают следующие вопросы: распределение введенного фосфата в организме животных и человека и обмен наличного фосфата на вновь поступающий; экскреция эндогенного и экзогенного фосфора; отложение фосфора в костях и обновление фосфатов скелета; превращения пирогосфата, белого и красного фосфора; обмен фосфатов и поступление их органических производных в мышцах; образование фосфорных соединений в растениях; исследование крайне медленных процессов, какими являются рост зубов и обновление их минерального состава; образование фосфолипидов нервной ткани и обмен этих веществ; происхождение фосфолипидов яйца и куриного зародыша; происхождение фосфорных соединений в молоке. Прекрасный обзор этих исследований был доложен Г. Хевеси на конференции по вопросу о применении изотопов биогенных элементов в биологии, организованной Н. Бором в Копенгагене в мае 1938 г. (17).

В отношении радиоактивного изотопа фосфора мы не располагаем прямыми доказательствами, что организмы используют его в точности как стабильный фосфор, не производя никакого разделения смеси изотопов. Для изотопов водорода и азота мы имеем доказательство этому в том факте, что изотопный состав воды и азота, полученных из организмов, идентичен с изотопным составом воды и азота минерального происхождения. Мы можем, однако, принять, что и для фосфора сохраняет силу то, что установлено в отношении водорода и азота. Если организмы не делают различия между атомами с массой 1 и 2 или 14 и 15, то с тем большим основанием можно ожидать того же для атомов с массами 31 и 32, тем более что концентрация изотопа, прибавляемого к фосфору в качестве индикатора, ничтожно мала. Количество ^{32}P , полученное при помощи 100 мг радия, т. е. 10^{-10} г фосфора, при разбавлении 1 г PO_4HNa_2 дает препарат, в 1 мг которого в 1 секунду происходит распад тысячи атомных ядер. Легко можно обнаружить $1/1000$ долю этого количества. Можно возразить, что это количество чрезмерно мало: из этого миллиграмма, содержащего $2,10^9$ атомов радиоактивного фосфора, при введении его в организм крысы не придется даже по 1 атому ^{32}P на каждую клетку. Однако это можно учесть при взятии подлежащих исследованию проб, рассчи-

тая, как и при других биохимических исследованиях, количество применяемого для анализа материала так, чтобы величина проб не была слишком мала.

При внутривенной инъекции в человеческий организм меченый фосфор довольно быстро исчезает из плазмы крови: через 2 часа здесь остается только около 2% введенного количества. Это исчезновение зависит в основном от того, что плазма обменивается фосфатом со скелетом, в котором содержится в 6 000 раз больше фосфора, чем в плазме. Тот же эффект получается при встраивании раствора меченого фосфата с порошком костной золы: устанавливается равновесие в результате обмена идентичных ионов между раствором и поверхностями твердого тела. В соприкосновении с циркулирующими жидкостями тела находится, повидимому, минеральная поверхность значительной части костной ткани.

Мы уже приводили в качестве примера опыт, иллюстрирующий распределение меченого фосфора в теле крысы через 3 недели после его введения. Вот другой пример: через 4 часа после приема меченого фосфата рег ос 48% активности, или — что то же самое — введенного количества фосфата, находятся в скелете, 25% — в мускулатуре, 11% — в кишках, 10% — в печени, 2,4% — в крови, 2,3% — в почках, 1,2% — в коже и волосах, 0,08% — в мозгу. Сравнивая эти цифры с приведенными раньше, мы убеждаемся, что кости постепенно отдают накопленный фосфат другим органам. В то же время происходит проникновение фосфата в костную ткань, о чем речь будет ниже.

В экскреции фосфата участвуют как почки, так и кишечник. Уже через несколько минут после приема меченого фосфата внутрь его можно обнаружить в моче. Интересно проследить за ходом этого процесса: например, у женщины, выделившей за 76 дней 78 л мочи, содержащих 39,5 г фосфора, с мочой вывелось только 21% меченого фосфора, введенного в ничтожном количестве в начале этого периода. Однако доля участия мочи в экскреции фосфора, как известно, весьма изменчива.

Что касается выделения через кишечник, то представляется возможным определить происхождение фосфата — отличить пищевой фосфат от такового кишечных секретов. Собаке вводится рег ос натошак 300 мг меченого фосфора в виде фосфата натрия вместе с 50 г прованского масла; через 6 часов в кишечнике находят только 40 мг меченого фосфора, остальное количество его всосалось; но кишечник содержит, кроме того, еще 175 мг фосфора эндогенного происхождения, т. е. всего 215 мг фосфора, активность которых соответствует активности 40 мг введенного меченого фосфора. Таким образом, можно, пользуясь меченым фосфором, определить соотношение между алиментарным и эндогенным фосфором в экскретах кишечника.

Проникновение фосфора в костную ткань происходит тем быстрее, чем менее минерализована кость: это зависит от лимфообращения. Чрезвычайно интересные факты были установлены Хевеси, Хольстом и Кромом в работе, посвященной обмену фосфора в зубах. Дентин содержит около 14%, эмаль — около 17% фосфора. Имеется ли обмен между сформированной зубной тканью и жидкостями организма? Происходит ли обновление составных частей зубной ткани, которая кажется столь неизменной?

Таблица 4

Распределение меченого фосфора (введенного с пищей) в резцах крысы через 2 дня
Цифры обозначают процентное содержание меченого фосфора в 1 мг золы

Центральная часть вокруг пульпы	0,135
Проксимальная часть	0,011—0,013
Дистальная часть	0,00063—0,00022

(Хевеси, Хольст, Кром)

Особый интерес представляет исследование резцов крысы, растущих с большой скоростью (у взрослой крысы — примерно на 3 мм в неделю). После добавления меченого фосфора к пищевому рациону крыс применялись очень сильные препараты ^{32}P , полученные циклотронным методом; было констатировано проникновение фосфора не только в ближайшие к пульпе участки зубов, образовавшиеся за время опыта, но также поступление его — хотя и значительно более слабое — в отдаленные части зубов. Эти части были вполне сформированы к моменту начала опыта. То же самое было обнаружено в опытах на кошках: фосфор проникает и в дентин, и в зубную эмаль взрослых животных, причем в эмали содержится $\frac{1}{80}$ того количества, которое обнаруживается в дентине. У кошки, получившей 120 мг меченого фосфора, в каждый клык поступило 5 γ , в каждый коренной зуб — 3 γ . У взрослого человека, принимающего с пищей 2 г фосфора в день, обмен 1% из тех 150 мг фосфора, что содержатся в одном зубе, совершается за 250 дней. Примерно 1 атом из 300 000 атомов фосфора, принятого с пищей, поступает в каждый зуб взрослого человека, сменяя в нем другой атом фосфора.

Этот пример дает представление о преимуществах нового метода: он позволяет исследовать чрезвычайно медленные или количественно очень слабые перемещения и превращения, притом в системах, состоящих из больших количеств того самого вещества, обмен которого мы изучаем. Напомним, впрочем, что уже давно умели метить вновь образованную костную ткань, добавляя к пище животных красильный крап и исследуя затем окраску костей.

Особого внимания заслуживают факты, обнаружившиеся при применении нового метода к исследованию явлений проницаемости клеток и тканей. Внутренняя тканевая среда мышц включает, наряду с органическими компонентами, фосфат калия, тогда как в тканевой жидкости, окружающей волокна, содержатся соли натрия — те же, что в циркулирующих жидкостях тела. Проницаемость для фосфатов свойственна только альтерированным мышцам, подвергнутым сильному утомлению в анаэробных условиях; в этих условиях фосфаты и ионы калия выходят из волокон в окружающую среду. То же относится к красным кровяным тельцам, которые, например, у лошади, кролика или свиньи, содержат в качестве главного электролита фосфат калия. Оказалось, что меченый неорганический фосфат очень быстро входит как в мышечные волокна, так и в эритроциты. Этот факт можно истолковать только как обмен фосфата на фосфат сквозь клеточную мембрану. Обмена внутреннего фосфата эритроцита на внешний хлор нет, но есть непрерывный обмен внутреннего фосфата на внешний фосфат; это чрезвычайно важный биологический факт. Такой обмен не является, однако, универсальным явлением: например, в дрожжевые клетки меченый фосфор не входит. Эти клетки строго замкнуты в отношении потерь и поступления фосфора, и все межклеточные превращения фосфорных соединений, участвующих в спиртовом брожении, — а их около двадцати, — совершаются в них за счет наличного клеточного запаса фосфатов.

Такому вхождению и выходу фосфора, смене индивидуальных молекул в мышцах и эритроцитах, не сопутствует аналогичный процесс для калия, т. е. того катиона, которым определяется различие между минеральным составом внутриклеточной среды и составом жидкостей, окружающих клетки. Для маркирования калийных солей служит изотоп ^{42}K введенного радиоактивного калия. Он обладает кратковременной средней продолжительностью существования — около 12 часов. Хевеси, Ган и Реббе производили подкожные инъекции меченого хлористого калия и изучали распределение активности между плазмой и

эритроцитами, а также органами через различные промежутки времени путем сравнения с эталоном. Эти измерения показали, что за 24 часа сменяется только 3% всех ионов калия, содержащихся в эритроцитах кролика. Вероятно, это ионы, принадлежащие вновь образованным клеткам, которые, естественно, должны содержать калий такого же изотопного состава, как и циркулирующие в момент их образования в жидкости организма. Вероятно, в течение индивидуальной жизни эритроцита его калий не сменяется. Мышечная ткань обладает большей проницаемостью: у кролика за сутки, повидимому, обменивается около 8% ионов калия, содержащихся в мышцах.

Я описал метод, использованный Шенгеймером для изучения превращений азотистых соединений. Для прослеживания превращений фосфорных соединений этот метод был применен значительно раньше Хевеси. Предпосылки метода строго обоснованы: точно установлено, что спонтанный, т. е. неэнзиматический, обмен между эстерифицированными или фосфо-амидными фосфатными радикалами и неорганическим или эфиообразно связанным фосфатом не имеет места. Если произошел обмен, то в осуществлении его участвовали энзимы. Мы видели, как два лабильных фосфорных остатка аденозинтрифосфорной кислоты быстро обмениваются на меченый неорганический фосфат, в то время как фосфор адениловой кислоты в той же молекуле остается незатронутым. Когда меченый фосфор обнаруживают в веществе, отличном от того, которое было введено, то это значит, что новое тело образовалось за счет введенного, притом за время опыта. Таким образом, данный метод позволяет дифференцировать вновь образовавшиеся молекулы, например, молекулы фосфолипидов, казеина, фосфорных соединений мышечной ткани, от тех, что имелись налицо к началу опыта: мы имеем возможность установить место и этапы их превращений и перемещений (табл. 5).

Таблица 5. Распределение меченого фосфата в крови человека (Хевеси) через 2 часа после внутривенной инъекции

	Относительные активности
Фосфор неорганический кровяной плазмы	100
» » трихлоруксусного экстракта после 7-минутного гидролиза	18
Негидролизуемый фосфор в том же экстракте	13
Через 23 часа	
Неорганический фосфор плазмы	23
Фосфолипиды плазмы	6
» кровяных телец	0,5
Фосфор трихлоруксусного экстракта из телец	36

Мы уже говорили о быстром обмене, о проникновении меченых молекул фосфата в мышцы и в эритроциты; в этих клетках большую часть фосфата находят уже не в минеральной форме. В мышцах с течением времени — даже в покое — обновляются фосфор фосфокреатина, лабильный фосфор аденозинтрифосфорной кислоты, фосфор углеводно-фосфорных эфиров; изотопный состав этих фосфорных фракций постепенно приближается к таковому кровяной плазмы. В противоположность этому фосфор белков, фосфолипидов, адениловой кислоты обновляется очень медленно. Приблизительно то же имеет место в эритроцитах. У человека через 2 часа после инъекции меченого фосфата натрия, при относительной удельной активности фосфора плазмы, принятой за единицу, активность гидролизуемого за 7 минут при 100° фосфора эритроцитов составляет 0,18, медленно гидролизуемого фосфора (эфиры сахаров, адениловая кислота, дифосфоглицериновая кислота) — 0,13. Через

После 18 дней инкубации куриного яйца, в которое впрыснут меченый фосфат, в нем находят следующие удельные активности

В зародыше	{	Фосфор неорганический костей	1,66
		» липоидный	1,59
		» белковый	1,44
В остатках желтка . . .	{	Фосфор кислотнорастворимый	1,566
		» липоидный	0,018
		» белковый	0,05

держатся в них жирные кислоты берутся непосредственно, без всяких превращений, из жиров и фосфолипидов желтка: при введении в яйцо тяжелой воды в этих жирных кислотах не происходит никакого изменения изотопного состава водорода (Р. Шенгеймер).

В противоположность яичнику курицы, который в отношении поставки фосфолипидов зависит от печени, молочная железа козы сама образует фосфатиды молока или по крайней мере преобладающую часть этих липидов. В молоке после введения животному меченого фосфата минеральный фосфат быстрее всего приближается к изотопному составу кровяной плазмы; к моменту, когда неорганический фосфат молока обнаруживает уже значительную удельную активность, липоидный фосфор еще сильно от него отстает. Последний, следовательно, не может быть источником первого, как это с неизбежностью вытекало бы из предположения, что жиры молока образуются из фосфолипидов.

Только через 7 часов после внутривенной инъекции меченого фосфата молочная железа козы вырабатывает молоко, в котором фосфор имеет идентичный с плазмой крови изотопный состав; в противоположность этому, равновесие изотопного состава водорода между плазмой и молоком устанавливается с большой скоростью. В каждый данный момент молочная железа превращает в фосфорные соединения молока свои весьма значительные запасы фосфатов с тем, чтобы по мере израсходования восполнять их за счет плазмы крови.

Я попытался вкратце изложить работы Г. Хевеси и его сотрудников по данной проблеме. Осветить столь же полно работы других упомянутых выше авторов не представляется возможным. Данный обзор имеет целью скорее обрисовать новые пути, открывающиеся перед биохимическими изысканиями благодаря новой методике, чем перечислить все, что с помощью этой методики уже сделано или предпринято. Напомню все же о работах Янсена и Дольс по обмену фосфора у крыс, пораженных рахитом, о многочисленных исследованиях американских авторов по всасыванию и обмену, в первую очередь фосфолипидов, об эффективной работе Гамильтона, посвященной всасыванию в человеческом кишечнике натрия, калия, хлора, брома и иода, помеченных своими радиоактивными изотопами с короткими периодами полураспада, — работе, где всасывание прослеживалось путем измерения излучений, исходящих от руки подопытного лица¹. Укажу, далее, на работу Джозефа, Кона и Гринберга (Joseph, Cohn и Greenberg), которые использовали радиоактивный калий ^{42}K с коротким полупериодом (13 часов), превращающийся в ^{42}Ca , и на работы Перльмана и Чайкова об обмене фосфо-

¹ В этих опытах рука испытуемого (нормального человека) помещалась в свинцовую оболочку вместе со счетчиком Гейгера; поступление ионов натрия, калия, хлора, брома или иода в кровь немедленно обнаруживалось усилением излучений, исходящих от кисти в предплечье. Счетчик отмечает присутствие в руке натрия, хлора, брома и иода уже через 3—6 минут после приема per os, причем излучение достигает максимума примерно через 3 часа. Всасывание калия протекает медленнее.

липидов печени, их взаимоотношениях с холестерином и влиянии холина на их превращения. Много интересного сулит также применение тяжелого кислорода. Пока можно указать на вытекающее из опытов Алена и Хевеси доказательство того, что сера сульфатов при прохождении через организм не расстается с кислородом, разумеется, за исключением тех сульфатов, которые подвергаются бактериальному восстановлению в кишечнике. Попытка Дэй и Шил (Day, Sheel) добавлять тяжелый кислород в качестве индикатора к вдыхаемому воздуху обещает интересные результаты: вопрос о судьбе вдыхаемого кислорода снова встал в порядок дня в связи с новейшими успехами учения о биологическом окислении.

Чтобы оценить важное значение нового орудия биохимического исследования, следует отдать себе отчет в том, что маркировка молекул изотопами в большей степени, чем какой-либо другой метод, позволяет приблизить биохимический эксперимент к наблюдению. Сошлемся для обоснования этого положения на цитату, заимствованную у Клода Бернара: «Наблюдение есть исследование природного явления, а эксперимент—исследование явления, видоизмененного экспериментатором. Это противопоставление, которое может показаться чисто внешним, основанным на словесных дефинициях, указывает между тем, как мы увидим, единственный смысл, который мы должны вкладывать в понимание существенного различия, отделяющего науки наблюдательные от экспериментальных, или опытных, наук»¹.

Эксперимент отличается от наблюдения мысленной установкой наблюдателя, который, внося изменения в явление, ставит перед природой определенный вопрос, а также самими изменениями явления, развертывающегося в условиях, в большей или меньшей степени отличных от природных условий.

Задачи эволюции экспериментального искусства можно охарактеризовать следующим образом: увеличивать круг явлений, доступных наблюдению, возможно меньше изменять физиологические явления, в то же время придавая возможно большую ясность их наблюдению и истолкованию.

В предшествующем изложении я привел примеры экспериментов, при которых в организм вводятся только ничтожные количества его составных частей и пищевых веществ, — количества, не отражающиеся на ходе природных явлений, но вместе с тем делающие эти явления доступными наблюдению.

Мы имеем здесь наиболее тесное сближение между экспериментом и наблюдением, когда-либо достигнутое в области изучения обмена веществ и их физиологических превращений.

ЛИТЕРАТУРА

I. Общие данные об искусственных изотопах:

¹ K. Diebner u. E. Grassmann, Künstliche Radioaktivität. Experimentelle Ergebnisse, Leipzig, 1939, 87 стр. и складные таблицы. Пояснительный каталог искусственных изотопов, доведенный до сентября 1938 г. Приведена литература за 1933 г.: № 1—3; 1934 г.: № 4—44; 1935 г.: № 45—113; 1936 г.: № 114—168; 1937 г.: № 170—272; 1938 г.: № 273—342.

¹ Cl. Bernard. Introduction à l'étude de la médecine expérimentale, éd. 3, Paris, 1912, p. 27—28.

II. Применение изотопов свинца и висмута для изучения экскреции этих металлов и накопления их в опухолях:

2. J. A. Christiansen, G. Hevesy u. S. Lomholt, C.-r. trav. lab. Carlsberg, 178, 134, 1924; 179, 291, 1924.

3. B. Behrens, Arch. f. exp. Path., 109, 332, 1925.

4. G. Hevesy u. O. H. Walker, Arch. f. exp. Path. u. Pharm., 149, 336, 1930.

III. Применение дейтерия в биохимических исследованиях началось с работ:

5. G. V. Hevesy a. E. Hofer, Nature, 133, 495, 1934.

6. " " " " 134, 879, 1934.

7. " " " " Ztschr. physiol. Chem., 225, 28, 1934.

Приводятся только последние сводки:

8. R. Schoenheimer a. D. Rittenberg, The application of isotopes to the study of intermediary metabolism, Science, 87, 221, 1938.

9. R. Schoenheimer, The investigation of intermediary metabolism with the aid of heavy hydrogen, Harvey Lectures, 122, 1936/37.

10. A. Krogh, The use of deuterium in biological work, Enzymologia, V, 185, 1938. Работы по обмену жирных кислот:

11. R. Schoenheimer a. D. Rittenberg, J. Biol. Chem., 111, 169, 175, 1935; 113, 505, 1935; 117, 485; 120, 155, 503; 121, 235; 122, 227, 1937; 125, 495, 1938.

Применение дейтерия для исследования обмена стероидов:

12. R. Schoenheimer, D. Rittenberg a. M. Graff, J. Biol. Chem., 111, 183, 1935.—M. Anchel a. R. Schoenheimer, J. Biol. Chem., 125, 23, 1938.

IV. Применение тяжелого азота в исследованиях по обмену аминокислот.

Сводки:

13. R. Schoenheimer, D. Rittenberg, N. Fox, A. S. Keston, S. Ratner, The nitrogen isotope ^{15}N as a tool in the study of the intermediary metabolism of nitrogen compounds, J. Amer. chem. soc., 59, 1768, 1937.

14. R. Schoenheimer, D. Rittenberg, G. L. Foster, A. S. Keston, S. Ratner, The application of the nitrogen isotope ^{15}N for the study of protein metabolism, Science, 88, 599, 1938.

Специальные работы:

15. R. Schoenheimer et al., Studies in protein metabolism I—IX, J. Biol. Chem., 127, 285, 291, 301, 315, 319, 329, 333, 385; 128, 603, 1939.

16. R. Schoenheimer, S. Ratner, D. Rittenberg, Science, 89, 272, 1939. V. Применение радиоактивного фосфора.

Сводка:

17. G. Hevesy, The application of isotopic indicators in biological research, Enzymologia, V, 138, 1038. (Лекция, читанная 16 июля 1939 г.; касается почти исключительно применения радиофосфора. Самая полная сводка по данному вопросу).

18. A. H. W. Aten, Isotopes and the formation of milk and eggs. Thesis, Utrecht, 1939.

Специальные работы: (В тех случаях, где на одну и ту же тему опубликованы предварительные и полные сообщения, приводятся только последние работы, опубликованные в Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab. Biologiske Meddelelser, цитируется сокращенно под: Videns. Selskab.)

19. O. Chievitz, G. Hevesy, Studies on the metabolism of phosphorus in animals, Videns. Selskab., 13, 13, 1937.

20. G. Hevesy, J. J. Holst, A. Krogh, Investigations on the exchange of phosphorus using radioactive phosphorus as indicator, Videns. Selskab., 13, 13, 1937.

21. L. Hahn, G. Hevesy, Formation of phosphatides in blood, C.-r. trav. lab. Carlsberg, Sér. chim., 22, 188, 1937.

22. L. Hahn, G. Hevesy, Formation of phosphatides in liver perfusion experiments, Biochem. J., 32, 342, 1938.

23. G. Hevesy, H. B. Levi, O. H. Rebbe, The origin of the phosphorus compounds in the embryo of the chicken, Biochem. J., 32, 2147, 1938.

24. G. Hevesy, L. Hahn, Origin of phosphorus compounds in hens' eggs, Videns. Selskab., 14, 2, 1938.

25. L. Hahn, G. Hevesy, The formation of phosphatides in the brain tissue of adult animals, Scand. Arch. Physiol., 77, 148, 1937.

26. G. Hevesy, A. H. W. Aten, jr., Interaction of plasma phosphate with the phosphorus compounds present in the corpuscles, Videns. Selskab., 14, 5, 1939.

27. G. Hevesy, L. Hahn, O. Rebbe, Excretion of phosphorus, Videns. Selskab., 14, 3, 1939.

28. C. Artom, C. Perrier, M. Santangelo, G. Sarzana, E. Segré, Distribuzione e velocità di organizzazione del fosforo nei vari tessuti animali, *Archivio Italiano di scienze farmacologiche*, 1937.
29. J. Perlman, S. Ruben, I. J. Chaikoff, The rate of formation and destruction of phospholipides in the fasting rat, *J. Biol. Chem.*, **122**, 169, 1937.
30. B. A. Fries, S. Ruben, I. Perlman, J. I. Chaikoff, The rôle of the stomach, small intestine and large intestine in the phospholipid metabolism in the presence and absence of ingested fat, *J. Biol. Chem.*, **123**, 587, 1938.
31. C. Entenman, S. Ruben, I. Perlman, F. W. Lorenz, J. I. Chaikoff The conversion of phosphate to lipid phosphorus by the tissues of laying and non laying birds *J. Biol. Chem.*, **124**, 795, 1938.
32. G. W. Changus, I. J. Chaikoff, S. Ruben, The metabolism of the brain, *J. Biol. Chem.*, **126**, 433, 1938.
33. I. Perlman, I. J. Chaikoff, On the action of choline upon the liver of the fat-fed rat, *J. Biol. Chem.*, **127**, 211, 1938.
34. M. J. L. Dols, B. C. P. Jansen, Studies on phosphorus metabolism in normal and rachitic rats with radioactive phosphorus isotope, *Koninkl. Akad. van Wetenschap. te Amsterdam, Proceed.*, **15**, No 6, 1937.
35. M. J. L. Dols, B. C. P. Jansen, C. J. Sizoo, F. Barendrecht, *Nature*, **141**, 77, 1937.
36. M. J. L. Dols, *Physiol. Congr. XVI, Bericht*, 157, 1938.
- Работы по нежучному углеводному обмену:
37. G. Hevesy, T. Baranowski, G. A. Guthke, P. Ostern, J. K. Parnas, Untersuchungen über die Phosphorübertragungen in der Glykolyse und Glykogenolyse, *Acta biologiae experimentalis, Varsoviae*, **12**, 34, 1938.
38. G. Hevesy, T. Baranowski, G. Guthke, P. Ostern, J. K. Parnas, Badania nad glikolizą. Nowa metoda z zastosowaniem fosforu promieniotwórczego, *Prace Towarzystwa Naukowego we Lwowie*, **18**, 3, 1938.
39. T. Korzybski, J. K. Parnas, Über Abbau und Wiederaufbau der Adenylsäure im Warmblütermuskel, *Z. Physiol. Chem.*, **255**, 1935, 1938.
40. J. K. Parnas, Über die enzymatischen Phosphorylierungen in der alkoholischen Gärung und in der Muskelkogenolyse, *Enzymologia*, **5**, 166, 1938.
41. T. Korzybski, J. K. Parnas, Observations sur les échanges des atomes du phosphore renfermés dans l'acide adénosine-triphosphorique, dans l'animal vivant, à l'aide du phosphore marqué par du radiophosphore ^{32}P , *Bull. Soc. chim. biol.*, **21**, 713, 1939.

VI. Применение тяжелого кислорода:

42. A. H. W. Aten, jr., G. Hevesy, Fate of the sulphate radical in the animal body, *Nature*, **142**, 952, 142.
43. J. N. F. Day, P. Sheel, Oxygen isotopic exchange in animal respiration, *Nature*, **142**, 917, 1938.

VII. Исследование минерального обмена (Na, K, Cl, Br, I, S, Fe) при помощи радиоактивных изотопов этих элементов.

Недавно вышедший обзор:

44. D. M. Greenberg, *Ann. Review of Biochem.*, **8**, 269, 1939.
- Специальные работы:
45. J. G. Hamilton, *Proc. Nat. Acad. Sciences U. S. A.*, **23**, 521, 1937; *Amer. J. Physiol.*, **124**, 677, 1938.
46. J. H. E. Griffiths, B. G. Maergrath, Distribution of radioactive sodium after injection into the rabbit, *Nature*, **143**, 119, 1939.
- Применение изотопа калия ^{42}K .
47. L. Hahn, G. Hevesy, O. Rebbe, Permeability of corpuscles and muscle cells to potassium ions, *Nature*, **143**, 102, 1939.
48. M. Joseph, W. E. Cohn, D. M. Greenberg, Absorption, distribution and excretion of potassium, *J. Biol. Chem.*, **128**, 673, 1939.

РОЛЬ ИНСУЛИНА В АНАЭРОБНОЙ ФАЗЕ ОБМЕНА УГЛЕВОДОВ В МЫШЦАХ

ВЛИЯНИЕ МЫШЕЧНОЙ РАБОТЫ НА РАСПРЕДЕЛЕНИЕ УГЛЕВОДНЫХ
ФРАКЦИЙ И ОБРАЗОВАНИЕ МОЛОЧНОЙ КИСЛОТЫ В НОРМАЛЬНОЙ
И ДИАБЕТИЧЕСКОЙ МЫШЦЕ¹

Н. Н. Яковлев

Из лаборатории физиологической
химии (зав.—проф. Н. В. Веселкин)
Естественно-научного института
им. Лесгафта в Ленинграде

Поступила в редакцию 23.II.1939 г.

Еще в 1914 г. Forschbach (1) показал, что содержание молочной кислоты в мышцах при диабете очень невелико. Позднее эти данные были подтверждены Reid (2), а целым рядом авторов [Doisy с сотрудниками (3), Sass (4), Parnas (5), Chambers (6) и др.] было показано, что под влиянием работы или вызванных стрихнином судорог содержание молочной кислоты в мышцах диабетических животных возрастает весьма незначительно. Далее, Shorr с сотрудниками (7) нашли, что под влиянием анаэробнообразования молочной кислоты изолированными мышцами диабетических животных гораздо меньше, чем это имеет место в опытах с мышцами нормальных животных. В свою очередь Sohn и Houquet (8) отметили, что гликолиз в диабетических мышцах¹ идет медленнее, прогрессивно снижаясь во время опыта, и количество образующейся в конечном итоге молочной кислоты оказывается меньшим, чем в нормальных мышцах.

Вместе с тем Lesser (9) обнаружил, что интенсивность распада гликогена в нормальных и диабетических мышцах при выдерживании их в течение 20 минут в дистиллированной воде совершенно одинакова. На основании этого Lesser делает вывод, что при диабете потребление сахара мышцами не нарушено и гликолиз идет так же, как в норме.

Таким образом, с одной стороны, мы имеем данные, указывающие на уменьшение гликолиза в мышцах при диабете, а с другой стороны, данные, указывающие на то, что он не изменен.

Однако это противоречие является скорее кажущимся и зависящим от того, что все цитированные выше авторы не изучали одновременно содержания гликогена и молочной кислоты, а определяли только что-нибудь одно. При одновременном определении как распада гликогена, так и образования молочной кислоты нам удалось установить, что в диабетической мышце существует известная диспропорция между этими процессами (10). Усиливая интенсивность анаэробного распада углеводов с помощью различных методов (адреналин, задушение водородом, отравление цианидами), мы установили, что, тогда как распад гликогена при этом и в нормальной, и в диабетической мышцах возрастает в равной степени, содержание молочной кислоты в последней повышается значительно меньше. Иначе говоря, в диабетической мышце на единицу распавшегося гликогена образуется меньше молочной кислоты, чем в нормальной.

На основании этих данных можно высказать предположение, что в бедной инсулином диабетической мышце, очевидно, не все продукты распада гликогена доходят до стадии молочной кислоты, а, выпадая из цепи реакций, накапливаются в мышце или выходят из нее.

Выяснение вопроса о характере этих продуктов является чрезвычай-

¹ Говоря о «диабетических мышцах», мы везде имеем в виду мышцы животных, лишенных поджелудочной железы.

но важным для понимания точки приложения и роли инсулина в анаэробной фазе обмена углеводов в мышцах. Если эти накапливающиеся в мышце продукты оказались бы имеющими шестиуглеродные «скелеты», то это явилось бы весьма существенным подтверждением высказанной Brugsch и Horsters (11) гипотезы об участии инсулина в процессе фосфорилирования углеводов, которой придерживаемся и мы (10).

Согласно данным целого ряда авторов, в мышцах имеются следующие углеводы: гликоген, гексозомонофосфат, свободный сахар (глюкоза) и в очень небольших количествах декстрины и мальтоза, причем последние могут и отсутствовать.

В настоящем исследовании мы определяли гликоген, гексозофосфат, свободный сахар и общее количество углеводов. Что же касается количества декстринов и мальтозы, то о нем можно было судить по разности между общим количеством углеводов и суммой определяемых нами углеводных фракций. В качестве фактора, усиливающего интенсивность распада углеводов в мышцах, мы взяли интенсивную мышечную работу.

Экспериментальная часть

Опыты ставились на кошках и зимних лягушках. Как кошки, так и лягушки делились на 3 группы: 1) нормальные животные, 2) диабетические (лишенные поджелудочной железы за 6 дней до опыта) и 3) животные, подвергнутые «ложной операции», у которых за 6 дней до опыта была произведена лапаротомия, но поджелудочная железа удалена не была, чтобы учесть влияние наркоза и операционной травмы.

Опыты на кошках ставились под глубоким амиталовым наркозом (100 мг амитала на 1 кг веса). По наступлении полной потери рефлексов перерезались оба седалищных нерва и периферический конец правого брался на электроды. Через 45—60 минут начиналось раздражение нерва прерывистым индукционным током, которое длилось в течение 15 минут (аккумулятор в 2 V, расстояние между катушками индуктория — 15 см, замыкание цепи через метроном — 60 раз в 1 минуту). Затем обе икроножные мышцы — как работавшая, так и покоившаяся, контрольная — быстро вырезались (причем первая еще в момент сокращения), замораживались в жидком воздухе, тщательно измельчались в порошок и шли на анализ.

Опыты на лягушках ставились совершенно аналогично, но только без применения какого-либо наркоза.

В опытах на кошках мы определяли все углеводные фракции и молочную кислоту в икроножных мышцах одного и того же животного, а в опытах на лягушках, вследствие небольших величин мышц, мы вынуждены были для изучения каждого из интересующих нас веществ выделить специальную группу животных. Только гликоген с молочной кислотой, равно как и общие углеводы с молочной кислотой, определялись на одном и том же животном.

Общее количество углеводов мы определяли по Bissinger и Lesser (12)¹, гликоген по Pflüger (микромодификация), гексозомонофосфат по Embden и Jost (13), свободный сахар по Bissinger и Lesser (12), а молочную кислоту по Friedemann и Greaser (14).

Кроме основных опытов, нами были поставлены еще и контрольные опыты, где сравнивалось содержание углеводных фракций и молочной кислоты в одноименных покоившихся мышцах той и другой стороны одного и того же животного. Результаты этих последних опытов (табл. 1) показали, что как в норме, так и при диабете колебания в содержании изучаемых нами веществ между правой и левой покоящимися икроножными мышцами невелики.

Из табл. 1 мы видим прежде всего, что мышцы животных, подвергнутых «ложной операции», ничем не отличаются от мышц нормальных животных. Под влиянием 15-минутной работы как в тех, так и в

¹ В метод Bissinger и Lesser нами была внесена некоторая модификация, а именно: уксуснокислая ртуть была заменена сернокислым цинком и в ряде опытов сернокислым кадмием, что дало результаты, не отличавшиеся от результатов Bissinger и Lesser, и вместе с тем значительно упростило метод.

Таблица 1. Распределение углеводных фракций и содержание молочной кислоты в полежащих соименных мышцах правой и левой задних конечностей лягушки (средние величины)¹

		Нормальные лягушки			Лягушки, лишенные поджелудочной железы		
		правая мышца	левая мышца	разность	правая мышца	левая мышца	разность
Общее количество углеводов в мг%	Среднее	1 267	1 270	+ 3	1 106	1 108	+ 2
	Максимум	1 505	1 505	+ 7	1 322	1 325	+ 3
	Минимум	1 024	1 026	- 3	987	990	+ 0
Гликоген в мг%	Среднее	829	828	- 1	385	392	+ 7
	Максимум	976	962	+10	465	469	+12
	Минимум	628	632	-14	315	321	+ 4
Гексозомонофосфат в мг% сахара	Среднее	183	182	- 1	82	83	+ 1
	Максимум	213	216	+ 3	100	98	+1,5
	Минимум	152	153	- 6	64	65	-2,0
Свободный сахар в мг%	Среднее	46	45	- 1	208	208	+ 0
	Максимум	62	63	+ 1	280	281	+ 1
	Минимум	32	32	- 1	140	140	+ 0
Молочная кислота в мг%	Среднее	40	41	+ 1	21	21	+ 0
	Максимум	44	46	+ 1	27	26	+ 1
	Минимум	36	35	+ 0	16	17	+ 0

¹ Каждое число — среднее из 10 опытов.

других в равной мере уменьшается общее количество углеводов, расходуется гликоген, увеличивается количество гексозомонофосфата и молочной кислоты и практически не изменяется свободный сахар. Что касается вычисленной величины декстринов и мальтозы, то эти вещества содержатся в столь ничтожных количествах, что говорить об их изменениях под влиянием мышечной работы не приходится.

Обращаясь к мышцам диабетических животных, мы видим уже несколько иную картину (табл. 2 и 3).

Приведенные данные свидетельствуют о том, что хотя под влиянием 15-минутной работы в диабетической мышце уменьшение общего количества углеводов и гликогена так же велико, как и в мышцах нормальных животных, однако образование молочной кислоты в них значительно меньше. Содержание гексозомонофосфата в них под влиянием работы снижается, а свободный сахар и сумма декстринов и мальтозы, содержащиеся и в полежащей диабетической мышце, в значительно больших, чем в норме, количествах еще больше увеличиваются. Таким образом, по первому впечатлению можно сказать, что причиной диспропорции между распадом гликогена и образованием молочной кислоты в диабетической мышце является накопление в ней «промежуточных углеводов» (Meyerhof): декстринов, мальтозы и глюкозы. Однако если бы дело было только в этом, то количество общих углеводов в диабетической мышце уменьшалось бы под влиянием работы значительно

Таблица 2. Распределение углеводных фракций и содержание молочной кислоты в покоящихся и работающих мышцах кошек (средние величины)

Серии опытов	Общее количество углеводов в мг%			Гликоген в мг%			Гексозомонофосфат сахара в мг%			Декстрины и мальтоза в мг%			Свободный сахар в мг%			Молочная кислота в мг%			Сахар крови в мг%	K_y^1	K_z^2
	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность			
Нормальные кошки (8 опытов)	777 589	— 188 623	416	— 207	123	143	+ 20	3	2	— 1	33	33	± 0	44	145	+ 101	84	57,3	51,6		
	Максимум	946 774	— 385 777	583	— 367	144	163	+ 28	10	5	+ 3	50	+ 8	57	179	+ 157	112	74	66		
	Минимум	679 377	— 115 504	203	— 129	81	106	+ 1,7	0	0	— 5	16	— 19	22	113	+ 72	62	41	35		
Кошки, подвергнутые «ложной операции» (3 опыта)	821 631	— 190 670	457	— 213	116	137	+ 21	0	2	+ 2	37	37	± 0	43	152	+ 109	80	59	50,6		
	Максимум	880 680	— 200 761	541	— 220	131	151	+ 24	0	5	+ 5	45	+ 2	49	169	+ 119	87	59,5	54,1		
	Минимум	778 590	— 181 615	410	— 205	95	116	+ 19	0	0	+ 0	28	— 2	39	140	+ 101	72	54,7	46,0		
Кошки, лишенные поджелудочной железы (10 опытов)	732 535	— 197 411	169	— 242	84	65	— 19	38	86	+ 48	66	213	+ 47	35	63	+ 28	272	14,5	10,3		
	Максимум	860 610	— 250 506	300	— 320	109	79	— 31	100	114	+ 100	310	350	+ 91	51	84	+ 43	317	20	13,3	
	Минимум	542 388	— 131 310	85	— 190	61	43	— 4	5	26	+ 0	101	105	+ 5	14	40	+ 10	219	4,2	4,8	

1 Количество молочной кислоты, образовавшейся во время работы, отнесенное к 100 единицам распавшихся углеводов.

2 То же, отнесенное к 100 единицам распавшегося гликогена.

Таблица 3. Распределение углеводных фракций и содержание молочной кислоты в покоящихся и работающих мышцах лягушек (средние величины)

Серии опытов	Общее количество углеводов в мг%			Гликоген в мг%			Гексозомонофосфат в мг% сахара			Свободный сахар в мг%			Молочная кислота в мг%			Сахар крови в мг%	K _y	K _z	
	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность				
Нормальные лягушки	Среднее	1 208 ²	1 021	- 187	888 ³	697	- 191	162 ³	198	+ 36	52 ²	51	- 1	48 ²	110	+ 62	76 ⁴	29,6	33,5
	Максимум	1 560	1 400	- 292	1 160	900	- 400	287	300	+ 90	67	67	+ 2	75	213	+ 141	103	48	47
	Минимум	900	800	- 132	620	561	- 59	106	122	+ 6	31	31	- 10	20	56	+ 32	48	20	19
Лягушки, подвергнутые «ложной операции»	Среднее	1 236 ¹	1 001	- 235	922 ¹	796	- 126	126 ¹	178	+ 52	45 ¹	46	+ 1	54 ²	135	+ 81	81 ³	42	48
	Максимум	1 340	1 220	- 312	1 110	986	- 200	162	220	+ 120	68	70	+ 1,5	84	218	+ 190	114	70,1	60,9
	Минимум	998	808	- 120	684	583	- 62	100	126	+ 16	28	29	- 1,0	28	70	+ 41	54	33,3	26,3
Лягушки, лишённые поджелудочной железы	Среднее	1 165 ²	976	- 189	350 ²	155	- 165	90 ³	62	- 28	211 ³	262	+ 51	26 ³	46	+ 20	248 ⁴	12,3	11,04
	Максимум	1 360	1 210	- 223	530	420	- 227	135	90	- 89	280	316	+ 166	45	100	+ 37	327	23,9	17,1
	Минимум	860	705	- 110	254	112	- 110	59	44	± 0	148	173	+ 15	9	16	+ 6	180	5,6	4,7

¹ Среднее из 5—7 опытов.² Среднее из 10 опытов.³ Среднее из 15—20 опытов.⁴ Среднее из 25—45 опытов.

меньше, чем количество гликогена, и, следовательно, на единицу израсходованных при работе общих углеводов приходилось бы больше молочной кислоты, чем на единицу израсходованного гликогена¹.

На самом же деле мы видим, что в наших опытах уменьшение общих углеводов в диабетических мышцах столь же велико, как и уменьшение гликогена, и поэтому количество молочной кислоты, приходящееся на единицу израсходованных общих углеводов, такое же, как и количество ее, приходящееся на единицу израсходованного гликогена.

Следовательно, существующая в диабетической мышце диспропорция между распадом гликогена и образованием молочной кислоты или зависит не только от накопления «промежуточных углеводов», или накапливающиеся в мышце продукты распада гликогена в значительной мере уносятся из мышцы кровью. Этот вопрос может быть решен только опытами на изолированных мышцах, где все образующиеся продукты распада гликогена не имели бы возможности покидать мышцу.

С этой целью нами были поставлены опыты, в которых у лягушек через 45—60 минут после перерезки седалищных нервов и взятия периферического конца правого нерва на лигатуру обе задние конечности быстро отсекались одним ударом ножниц, левая икроножная мышца замораживалась и шла на анализ, а правая в виде нервно-мышечного препарата вместе с костью и коленным и голеностопным суставами укреплялась на небольшой пробковой пластинке и помещалась в термическую влажную камеру.

Нерв осторожно укладывался на электроды, камера заполнялась очищенным водородом, и мышца в течение 15 минут раздражалась индукционным током, совершенно так же, как и в опытах на целой лягушке. По прошествии 15 минут мышца вынималась из камеры, замораживалась и шла на анализ.

Результаты этих опытов (табл. 4) показывают, что на изолированных мышцах получаются несколько иные данные, чем на мышцах *in situ*.

Прежде всего мы видим, что, вследствие невозможности оксидативного ресинтеза гликогена из молочной кислоты (водородный анаэробизм), равно как и невозможности выхода молочной кислоты из мышцы, увеличение ее под влиянием работы и в нормальных, и в диабетических мышцах выше, чем в опытах на целом животном, однако и в этих условиях диабетическая мышца образует меньше молочной кислоты, чем нормальная.

Что же касается увеличения свободного сахара в диабетической мышце, то оно тоже более значительно, чем в опытах на целом животном, а это с несомненностью указывает на то, что там известная часть образующегося сахара уходила из мышцы в кровь.

Наконец, весьма важно, что расщедование общих углеводов в изолированных диабетических мышцах значительно меньше, чем в нормальных.

В предыдущей работе (10) нами было показано, что распад гликогена в изолированных диабетических и нормальных мышцах идет с одинаковой интенсивностью. Сопоставляя эти данные с данными настоящих опытов, мы можем смело сказать, что причиной существующей в диабетической мышце диспропорции между распадом гликогена и образованием молочной кислоты является накопление в мышце нефосфорилированных «промежуточных углеводов». Возможно, конечно, что в диабетической мышце накапливаются еще и какие-нибудь продукты,

¹В таблицах количество образовавшейся молочной кислоты, отнесенное к распаду общих углеводов (K_y), вычислено по формуле $K_y = \frac{\Delta M}{\Delta Y} \times 100$, а количество образовавшейся молочной кислоты, отнесенное к распаду гликогена (K_z), вычислено по формуле $K_z = \frac{\Delta M}{\Delta G} \times 100$, где ΔM — абсолютное увеличение молочной кислоты в мышце, ΔY — абсолютное уменьшение общих углеводов, а ΔG — абсолютное уменьшение гликогена.

Таблица 4. Содержание общих углеводов, свободного сахара и молочной кислоты в покое и работающих изолированных мышцах лягушек (средние величины)¹

Серии опытов	Общее количество углеводов в мг%			Свободный сахар в мг%			Молочная кислота в мг%			K _y	
		по-рой	рабо-та	раз-ность	по-рой	рабо-та	раз-ность	по-рой	рабо-та		раз-ность
Мышцы нормальных лягушек	{ Среднее Максимум Минимум	1 175	995	— 180	50	46	— 4	41	55	+ 214	118
		1 484	1 300	— 276	76	61	+ 2	123	318	+ 288	146
		965	790	— 120	32	34	— 18	28	160	+ 123	94
Мышцы лягушек, лишенных поджелудочной железы	{ Среднее Максимум Минимум	1 011	943	— 98	151	250	+ 99	22	103	+ 81	92
		1 330	1 270	— 160	218	300	+ 133	34	157	+ 141	187
		820	680	— 65	82	199	+ 43	14	69	+ 51	50

¹ Каждое число — среднее из 10 опытов.

имеющие трехуглеродные «скелеты» и не учитываемые при определении углеводов, однако это предположение не меняет сути дела. Имеющегося в диабетических мышцах накопления «промежуточных углеводов» вполне достаточно для объяснения существующей в диабетической мышце диспропорции между распадом гликогена и образованием молочной кислоты.

Что же касается вопроса о более точной локализации точки приложения действия инсулина, то здесь прежде всего следует обратиться к существующим в настоящее время схемам анаэробной фазы обмена углеводов в мышцах и прежде всего к тому месту, которое отводится в этих схемах гексозофосфорным эстерам.

Существующая по этому вопросу литература колоссальна, а поэтому мы обратимся только к двум основным точкам зрения. Так, согласно Meyerhof (15), первым продуктом распада гликогена является лабильный фруктозодифосфат, а гексозомонофосфат является побочным стабилизированным продуктом, образующимся путем отщепления одной частицы фосфатов от фруктозодифосфата [см. также Cori (16)]. Вместе с тем Parnas (17, 18, 19) полагает, что первым продуктом распада гликогена является гексозомонофосфат, а фруктозодифосфат образуется из этого эстера путем присоединения еще одной частицы фосфорной кислоты.

Далее, целым рядом авторов было показано, что инсулин имеет весьма тесное отношение к образованию гексозомонофосфата, а нами в предыдущей работе (10) было показано, что в диабетических мышцах, бедных инсулином, усиление анаэробного распада углеводов сопровождается в противоположность нормальным мышцам не увеличением, а уменьшением стабилизации этого эстера. Из данных же настоящего исследования следует, что инсулин необходим и для фосфорилирования распадающегося гликогена, причем, как это было показано в на-

шей предыдущей работе, влияние инсулина на процесс фосфорилирования углеводов осуществляется не непосредственно этим гормоном как таковым, а косвенно или при участии еще каких-то агентов, находящихся вне мышцы, влияние же инсулина на стабилизацию гексозомонофосфата обусловлено непосредственным действием его.

Перенося данные наших наблюдений на существующие основные схемы анаэробного распада углеводов, мы видим, что они хорошо согласуются со схемой Parnas и несколько хуже укладываются в схему Meyerhof. Действительно, придерживаясь схемы Meyerhof, мы должны признать косвенное влияние инсулина фосфорилирующим, а прямое — дефосфорилирующим, что нам кажется мало вероятным.

Если же мы обратимся к схеме Parnas, то получим стройную картину: инсулин своим косвенным влиянием способствует фосфорилированию распадающегося гликогена с образованием гексозомонофосфата, а своим непосредственным влиянием стабилизирует известную часть этого эфира, вследствие чего не все продукты распада гликогена сразу расходуются, но и не выпадают из общей цепи реакций.

При отсутствии или недостатке инсулина страдают и фосфорилирование, и стабилизация гексозомонофосфата, вследствие этого мы имеем низкий исходный уровень гексозомонофосфата в мышцах, еще большее понижение его под влиянием работы и то, что только известная часть гликогена фосфорилируется и разрушается далее до молочной кислоты, другая же часть выпадает из цепи реакций и разрушается через декстрины и мальтозу до глюкозы, которая в значительной части и уносится из мышц кровью.

Конечно, вполне возможно, что роль инсулина в анаэробной фазе распада углеводов в мышцах не ограничивается только влиянием на фосфорилирование распадающегося гликогена и на стабилизацию гексозомонофосфата. Можно ожидать, что не без участия инсулина протекают и «нижние отделы» анаэробного распада углеводов, но для обсуждений этого вопроса мы не имеем достаточных данных.

В ы в о д ы

1. Общее содержание углеводов в мышцах нормальных и лишенных поджелудочной железы животных (кошек и лягушек) практически одинаково, однако соотношения между отдельными фракциями их совершенно различны.

2. Мышцы животных, лишенных поджелудочной железы, значительно беднее гликогеном и гексозомонофосфатом, но богаче свободным сахаром, чем мышцы нормальных животных. Кроме того, они содержат в довольно больших количествах декстрины и мальтозу, которые практически в нормальных мышцах отсутствуют.

3. Под влиянием работы в мышцах животных, лишенных поджелудочной железы, на единицу распадавшегося гликогена образуется меньше молочной кислоты, чем в мышцах нормальных животных.

4. Эта диспропорция между распадом гликогена и образованием молочной кислоты в диабетических мышцах объясняется тем, что часть продуктов распада гликогена выпадает из цепи реакций анаэробной фазы гликолиза и обнаруживается в мышце в виде «промежуточных углеводов» — декстринов, мальтозы и глюкозы; содержание их в диабетической мышце под влиянием работы повышается, чего не наблюдается при работе в нормальной мышце.

5. Значительная часть образующегося в диабетической мышце свободного сахара поступает из мышцы в кровь, а это позволяет сделать вывод, что при диабете не только печень, но в значительной мере и мышцы являются источником сахара крови.

6. Инсулин необходим не только для стабилизации гексозомонофосфата, но и для фосфорилирования распадающегося гликогена: при падении инсулина этот процесс затрудняется.

ЛИТЕРАТУРА

1. Forsbach, *Bioch. Zeitschr.*, 58, 339, 1914.—2. Reid, *Journ. Physiol.*, 75, 14, 1932.—3. Doisy и сопр., *Journ. Biol. Chem.*, 63, 4, 1925.—4. Sass, *Zeitschr. exp. Path. u. Ther.*, 15, 370, 1925.—5. Parnas, *Bioch. Zeitschr.*, 116, 89, 1921.—6. Chambers и сопр., *Journ. Biol. Chem.*, 97, 525, 1932.—7. Shorr и сопр., *Amer. Journ. Physiol.*, 101, 92, 1932.—8. Cohn u. Houquet, *C.-r. Acad. Sci.*, 2024, 354, 1936.—9. Lesser, *Biochem. Zeitschr.*, 103, 1, 1920.—10. Яковлев, *Изв. Научн. инст. им. Лесгафта*, XXI, 1938.—11. Brugsch u. Horsters, *Bioch. Zeitschr.*, 147, 117, 1924; 149, 24, 1924; 155, 459, 158, 1925; 175, 90, 1926; 188, 147, 1927; *Zeitschr. ges. exp. Med.*, 60, 143, 1929; *Arch. exp. Path. u. Pharm.*, 148, 295, 1930.—12. Bissinger u. Lesser, *Bioch. Zeitschr.*, 168, 398, 1926.—13. Embden u. Yost, *Zeitschr. physiol. Chem.*, 179, 24, 1928.—14. Friedeman u. Greaser, *Journ. Biol. Chem.*, 100, 291, 1933.—15. Meyerhof, *Die chemischen Vorgänge in Muskel*, Berlin, 1930.—16. Cori, Hegnauer, Fisher u. Cori, *Proc. Soc. exp. biol. a. med.*, 32, 1075, 1935.—17. Parnas a. Ostern, *Nature (London)*, 134, 627, 1007, 1934.—18. Parnas, *Klin. Wschr.*, Nr. 29, 1017, 1935.—19. Parnas, *Физиол. журн. СССР*, XXIV, 285, 1938.

DIE ROLLE DES INSULINS BEI DER ANAEROBEN PHASE DES KOHLENHYDRATUMSATZES IM MUSKEL

EINFLUSS DER MUSKELARBEIT AUF DIE VERTEILUNG DER KOHLENHYDRAT-FRAKTIONEN UND AUF DIE MILCHSÄUREBILDUNG IM NORMALEN UND DIABETISCHEN MUSKEL

N. N. Jakowlew

Laboratorium f. physiologische Chemie
(Vorst.: Prof. N. W. Wesselkin) d.
Naturwissenschaftl. P. F. Lesshaft-
Instituts, Leningrad

1. In den Muskeln normaler und depankreatisierter Tiere (Katzen und Frösche) ist der gesamte Kohlenhydratgehalt praktisch der gleiche, aber das Verhältnis zwischen den einzelnen Kohlenhydratfraktionen ist ein ganz verschiedenes.

2. Die Muskeln depankreatisierter Tiere sind viel ärmer an Glykogen und Hexosemonophosphat, aber reicher an freiem Zucker als die Muskeln normaler Tiere. Ferner enthalten sie ziemlich ansehnliche Mengen an Dextrinen und Maltose, die in normalen Muskeln so gut wie vollständig fehlen.

3. Unter dem Einfluss von Arbeit tritt in den Muskeln depankreatisierter Tiere pro abgebaute Glykogen-Einheit weniger Milchsäure auf als in den Muskeln normaler Tiere.

4. Dieses Missverhältnis zwischen dem Glykogenabbau und der Milchsäurebildung im diabetischen Muskel lässt sich dadurch erklären, dass ein gewisser Anteil der Produkte des Glykogenabbaus aus der Reaktionskette des anaeroben glykolytischen Prozesses herausfällt und in der Form von «Zwischenkohlenhydraten»—Dextrinen, Maltose und Glukose—im Muskel nachgewiesen werden kann; deren Gehalt steigt im diabetischen Muskel unter dem Einfluss der Arbeit an, was bei der Arbeit des normalen Muskels nicht der Fall ist.

5. Ein bedeutender Anteil des im diabetischen Muskel gebildeten freien Zuckers tritt aus dem Muskel ins Blut über. Hieraus kann geschlossen werden, dass beim Diabetes nicht nur die Leber, sondern in wesentlichem Masse auch die Muskeln zur Bildung von Blutzucker beitragen.

6. Insulin ist nicht nur für die Stabilisierung von Hexosemonophosphat notwendig, sondern auch für die Phosphorylierung des abzubauenen Glykogens; in Abwesenheit von Insulin ist letzterer Prozess erschwert.

РОЛЬ ГИПОФИЗА В ОБМЕНЕ УГЛЕВОДОВ В МЫШЦАХ

СООБЩЕНИЕ I. ВЛИЯНИЕ УДАЛЕНИЯ ГИПОФИЗА НА ТЕЧЕНИЕ АНАЭРОБНОГО РАСПАДА УГЛЕВОДОВ В МЫШЦАХ

Н. Н. Яковлев

Из лаборатории физиологической
химии (зав.—проф. Н. В. Веселкин)
Естественно-научного института
им. П. Ф. Лесгафта, Ленинград

Поступила в редакцию 23.II.1939 г.

В предыдущих работах (1, 2) нами были получены данные, лишний раз подтверждающие, что инсулин и адреналин являются гормонами, имеющими чрезвычайно тесное отношение к анаэробной фазе обмена углеводов в мышцах. Адреналин является стимулятором анаэробного распада углеводов, дающим толчок более усиленному разрушению гликогена, а инсулин является регулятором этого процесса, способствующим фосфорилированию углеводов и стабилизации тексозофосфата.

Однако вполне возможно, что регулирование анаэробного распада углеводов в мышцах не ограничивается этими двумя гормонами и для правильного течения этого процесса нужны еще какие-нибудь другие гормоны и прежде всего гормоны гипофиза как железы, тесно связанной с углеводным обменом.

О роли гипофиза в углеводном обмене в настоящее время имеется значительное количество работ [см. обзорные статьи Houssay (3, 4), Альперн (5), Loewi (6) и др.]. Из многочисленных гормонов, продуцируемых этой железой, по крайней мере три — диабетогенный гормон передней доли [Houssay и сотрудники (7), Evans (8)], гликогенолитический гормон [Anselmino и Hoffmann (9), Képinov (10) и др.] и панкреатикостимулин [Aron (11), Anselmino и Hoffmann (9), La Barre (12) и др.] — имеют самое тесное отношение к углеводному обмену, а следовательно, их влияние должно отражаться и на химических превращениях углеводов в мышцах.

Вполне возможно, что гипофизарные гормоны имеют, в частности, отношение к анаэробной фазе обмена углеводов в мышцах. Если это так, то удаление гипофиза должно отражаться на течении анаэробного распада углеводов в мышцах, и этот процесс у гипофизэктомированных животных должен был бы дать те или иные отклонения от нормы.

С этой целью мы и предприняли настоящие опыты со сравнительным изучением динамики углеводных фракций и молочной кислоты в работающих мышцах нормальных и гипофизэктомированных животных.

Экспериментальная часть

Опыты ставились на зимних лягушках (*Rana temporaria*). Все животные были разделены на 4 группы: 1) нормальные лягушки; 2) лягушки, у которых гипофиз был удален за 6 дней до опыта; 3) лягушки, у которых гипофиз был удален за 15 дней до опыта; 4) лягушки, у которых была произведена «ложная операция», т. е. были проделаны все те хирургические манипуляции, которые делаются при гипофизэктомии, но гипофиз удален не был.

Самый опыт ставился следующим образом. У лягушки, пребывавшей до того в холодном помещении, перерезались оба седалищных нерва, причем правый нерв брался на лигатуру. Через 45—60 минут после этого обе задние конечности быстро отсекались одним ударом ножниц, левая икроножная мышца сразу же замораживалась в жидком воздухе и по измельчении шла на анализ, а правая в виде нервно-мышечного препарата (с сохранением кости и голенистоопного, и коленного суставов) укреплялась на небольшой пробковой пластинке и помещалась

в герметическую влажную камеру¹. Нерв осторожно укладывался на электроды, камера заполнялась очищенным водородом и мышца раздражалась прерывистым индукционным током в течение 15 минут. Расстояние между катушками индуктория, питавшегося от аккумулятора с напряжением в 2 V, равнялось 15—17 см. Замыкание цепи с помощью метронома происходило 60 раз в 1 минуту.

По прошествии 15-минутного раздражения током мышца извлекалась из камеры, быстро замораживалась, измельчалась и шла на анализ.

Как в работавших, так и в контрольных, не работавших, мышцах мы определяли общее количество углеводов [по методу Bissinger и Lesser (13)²], гликоген (по микрометоду Pflüger), гексозомонофосфат [по методу Embden и Jost (14)], свободный сахар [по методу Bissinger и Lesser (13)] и молочную кислоту [по методу Friedeman и Greaser (15)]. Кроме того, мы определяли величину сухого остатка мышц, но так как в результате этого исследования оказалось, что у всех 4 групп лягушек он практически одинаков (табл. 1), то все цифры для общего количества углеводов, гликогена, гексозомонофосфата, свободного сахара и молочной кислоты мышц мы вычисляли не на «сухой», а на «свежий» вес.

Таблица 1. Сухой остаток в мышцах лягушек в процентах (каждая горизонтальная графа дает средние величины из 15 опытов)

Серии опытов	Сухой остаток мышц в %		
	покоящаяся мышца	работающая мышца	разность
Нормальные лягушки	21,3	20,3	— 1,0
Гипофизэктомированные лягушки через 6 дней после операции	20,17	19,0	— 0,83
Те же лягушки через 15 дней после операции	19,7	19,2	— 0,5
Лягушки, подвергнутые «ложной операции»	19,8	19,3	— 0,5

Результаты опытов представлены в табл. 2.

Из табл. 2 мы прежде всего видим, что мышцы гипофизэктомированных животных несколько отличаются от мышц нормальных животных, по крайней мере в случае 15-дневных сроков после удаления гипофиза, причем различие касается содержания в них общего количества углеводов, гликогена и свободного сахара. Так, если через 6 дней разницы нет или она едва намечается, то через 15 дней она выражена вполне ясно: общее количество углеводов, гликогена и свободного сахара в полежащих мышцах гипофизэктомированных животных оказывается меньше нормального. Что же касается гексозомонофосфата и молочной кислоты, то содержание их в мышцах гипофизэктомированных и нормальных животных практически одинаково.

Таким образом, эти данные, с одной стороны, подтверждают теорию Houssay о том, что, вследствие пониженного сахарообразования в организме гипофизэктомированного животного, общие запасы углеводов во всем организме и, в частности, в мышцах понижены [Houssay и Biasotti (16), Phillips и Raab (17) и др.], с другой стороны, нормальное содержание гексозомонофосфата и молочной кислоты позволяет думать, что напряженность процессов углеводного распада в мышцах гипофизэктомированных животных не отличается от напряженности этих процессов в мышцах нормальных животных.

¹ Описание камеры см. в нашей предыдущей работе (1).

² Нами применялся несколько модифицированный способ (2).

Таблица 2 Распределение углеводов фракций и содержание молочной кислоты в покоящихся и работающих мышцах нормальных и гипофизэктомированных лягушек (средние величины)

Серия опытов	Общее количе- ство углеводов в мг.-%			Гликоген в мг.-%			Гексофос- фат в мг.-% сахара			Свободный сахар в мг.-%			Молочная кислота в мг.-%			Сахар крови в мг.-%	K_y^1	K_2^2
	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность			
Мышцы нормальных лягушек	1 175 ³	995	— 180	629 ⁴	441	— 188	116 ³	150	+ 34	50 ³	46	— 4	42 ⁸	233	+ 190	83 ⁹	106	102
	1 484	1 300	— 276	724	530	— 230	131	180	+ 37	76	58	+ 2	123	308	+ 271	102	156	125
	965	790	— 120	422	211	— 112	102	139	+ 30	32	34	— 17,6	28	160	+ 123	70	71	63
Мышцы лягушек ги- пофизэктомирован- ных (через 6 дней после операции)	1 121 ⁴	961	— 160	508 ³	325	— 183	109 ⁷	148	+ 39	38 ³	35	— 3	48 ⁸	210	+ 162	59 ⁹	102	90
	1 480	1 290	— 250	796	500	— 296	120	161	+ 52	52	47	+ 7	74	290	+ 220	80	151	182
	977	701	— 69	361	200	— 90	98	137	+ 19	27	30	— 19	25	126	+ 80	42	81	52
Мышцы лягушек ги- пофизэктомирован- ных (через 15 дней после операции)	670 ⁵	511	— 159	454 ⁵	282	— 172	112 ⁷	150	+ 38	26 ⁵	25	— 1	39 ⁸	208	+ 168	54 ⁹	106	98
	700	595	— 209	520	329	— 210	129	169	+ 40	36	35	+ 2	47	286	+ 241	72	116	121
	600	400	— 98	405	255	— 141	102	134	+ 32	13	15	— 2	30	128	+ 91	35	93	83
Мышцы лягушек, подвергнутых «лож- ной операции»	1 168 ⁶	982	— 186	635 ⁶	448	— 187	115 ⁶	149	+ 34	43 ⁶	47	— 2	44 ⁸	234	+ 190	85 ⁹	102	102
	1 389	1 206	— 252	737	521	— 215	140	169	+ 38	71	65	+ 3	81	301	+ 280	114	144	132
	985	810	— 131	440	287	— 114	95	130	+ 21	37	35	— 14	29	176	+ 141	73	80	62

¹ K_y — коэффициент образования молочной кислоты на единицу распавшихся общих углеводов $\times 100$.² K_2 — то же, на единицу распавшегося гликогена $\times 100$.³ Среднее из 10 опытов. ⁴ Среднее из 8 опытов. ⁵ Среднее из 6 опытов. ⁶ Среднее из 5 опытов. ⁷ Среднее из 4 опытов. ⁸ Среднее из 18—12 опытов. ⁹ Среднее больше чем из 20 опытов.

Если мы теперь обратимся к тем изменениям, которые вносит в распределение углеводных фракций и содержание молочной кислоты в мышце 15-минутная работа ее, то увидим, что и в мышцах гипофизэктомированных (независимо от срока, прошедшего после операции), и в мышцах нормальных животных они одинаковы и сводятся к приблизительно равному уменьшению общего количества углеводов и гликогена и увеличению гексозофосфата и молочной кислоты. Свободный сахар и в том, и в другом случае практически не изменяется.

Таким образом, совершенно очевидно, что удаление гипофиза никак не отражается на течении анаэробного распада углеводов в мышцах.

Очевидно, для регулирования этого процесса гипофизарные гормоны не имеют того значения, которое принадлежит инсулину и адреналину.

Обращаясь к данным литературы, мы видим, что большинство авторов склоняется к другому мнению, а именно, что удаление гипофиза приводит к ослаблению гликогенолиза в мышцах [Corkill, Marks и White (18), Chaikoff, Reichert, Read и Mathes (19), Young (20), Bachmann и Toby (21) и др.]. Эти авторы основывают свои выводы на том, что гликоген как печени, так и мышц у гипофизэктомированных животных становится менее чувствительным к адреналину и труднее разрушается под влиянием этого гормона. Правда, против такой точки зрения существуют и возражения. Так, Marks (22) показал, что при внутривенном введении адреналина мышечный гликоген у гипофизэктомированных животных разрушается в той же степени, что и у нормальных, а Russel и Cori (23) пришли на основании своих опытов к заключению, что ослабление действия адреналина при подкожном введении его зависит от замедления всасывания его под влиянием гипофизэктомии; если адреналин вводить не под кожу, как это делали Corkill, Chaikoff и др., а в кровь, то разрушение гликогена и нарастание гексозофосфата в мышцах гипофизэктомированных животных совершенно такие же, как и у нормальных животных.

Что же касается наших данных, то они не только подтверждают данные Cori, но и существенно дополняют их.

Если базироваться только на данных опытов Cori, не учитывая наших данных, то можно сказать, что разрушение мышечного гликогена адреналином не страдает от отсутствия гипофиза, но ничего нельзя сказать о том, как у гипофизэктомированных животных происходит расхождение гликогена при работе. Может быть, он расходуется понижено и легко разрушается только при повышенной секреции адреналина? Может быть, только создав гиперадреналинемию, мы можем получить у лишенных гипофиза животных достаточно большой гликогенолитический эффект? Наши опыты дают на этот вопрос совершенно определенный ответ. В наших опытах на изолированных мышцах, лишенных, следовательно, всяких гормональных влияний, кроме тех небольших количеств различных гормонов, которые оставались в мышце, гликогенолиз, вызванный мышечной работой, протекал совершенно одинаково и в нормальных мышцах, и в мышцах гипофизэктомированных животных. Значит, при удалении гипофиза мышечный гликогенолиз (понимая под этим термином не только разрушение гликолиза, но и весь процесс анаэробного распада углеводов до молочной кислоты) совершенно не изменяется.

Сопоставляя свои данные с данными Russel и Cori, мы можем смело сказать, что гипофизарные гормоны не являются необходимыми для анаэробной фазы обмена углеводов в мышцах и, очевидно, не принимают в ней непосредственного участия, что, конечно, не исключает косвенного влияния этих гормонов при посредстве воздействия на инкреторную деятельность других эндокринных желез (например, надпочеч-

ника и поджелудочной железы), а равным образом и возможного участия гормонов гипофиза в оксидативной фазе обмена углеводов в мышцах.

В ы в о д ы

1. Покоящиеся мышцы лягушек, лишенных гипофиза, имеют более низкое содержание общих углеводов, гликогена и свободного сахара, причем это явление, едва заметное через 6 дней после операции, становится вполне очевидным через 15 дней после нее.

2. Содержание молочной кислоты и гексозомонофосфата в мышцах гипофизэктомированных лягушек ничем не отличается от содержания этих веществ в мышцах нормальных лягушек.

3. Течение анаэробного распада углеводов в работающих изолированных мышцах лягушек, лишенных гипофиза, ничем не отличается от этого процесса в мышцах нормальных лягушек.

4. Данные эксперимента при сопоставлении их с литературными данными позволяют заключить, что гормоны гипофиза не принимают непосредственного участия в анаэробной фазе обмена углеводов в мышцах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Яковлев, Известия Научн. ин-та им. Лесгафта, XXI, 65, 1938.—2. Яковлев, Физиол. журн. СССР, 1939 (в печати).—3. Houssay, Endokrinologie, 5, 103, 1929.—4. Houssay, Klin. Wschr., Nr. 37, 1529, 1932; Rev. Française d'Endocr., 9, 423, 1931.—5. Альперн, Успехи совр. биол., 3, 379, 1934.—6. Loewi, Физиол. журн. СССР, 24, 224, 1938.—7. Houssay, Bull. Acad. Méd. Buenos Aires, 171, 1932; Houssay, Biasotti u. Rietti, C. r. Soc. biol., 115, 322, 325, 1934; Houssay, Klin. Wschr., 773, 1933.—8. Evans, Proc. Soc. exp. biol. a. med., 30, 1370, 1933.—9. Anselmino u. Hoffmann, Klin. Wschr., 12, 1933.—10. Képinov, C. r. Soc. biol., 122, 351, 1936.—11. Aron, C. r. Soc. biol., 88, 1445, 1920.—12. La Barre, C. r. Soc. biol., 97, 1416, 1927; 98, 330, 1928; 104, 113, 1930.—13. Bissinger u. Lesser, Bioch. Zeitschr., 108, 398, 1926.—14. Embden u. Jost, Zeitschr. physiol. Chem., 179, 24, 1928.—15. Friedeman u. Greaser, Journ. biol. chem., 100, 291, 1933.—16. Houssay u. Biasotti, C. r. Soc. biol., 104, 407, 1930.—17. Phillips u. Raab, Ann. rev. bioch., 4, 296, 1934.—18. Corkill, Marks u. White, Journ. Physiol., 80, 193, 1933.—19. Chaikoff, Reichert, Read u. Mathes, Amer. Journ. Physiol., 113, 306, 1935.—20. Young, Lancet, 231, 297, 1936.—21. Bachmann u. Toby, Journ. Physiol., 87, 1, 1936.—22. Marks, Journ. Physiol., 86 (proc.), 1936.—23. Russel u. Cori, Amer. Journ. Physiol., 119, 167, 1937.

DIE ROLLE DER HYPOPHYSE BEIM KOHLENHYDRATSTOFFWECHSEL IM MUSKEL

MITTEILUNG 1. EINFLUSS VON ENTFERNUNG DER HYPOPHYSE AUF DEN VERLAUF DES ANAEROBEN KOHLENHYDRATABBAUS IM MUSKEL

N. N. Jakowlew

Laboratorium f. physiologische Chemie
(Vorst.: Prof. N. W. Wesselkin) des
Naturwissenschaftl. P. F. Lesshaft-
Instituts, Leningrad

1. In den ruhenden Muskeln hypophysektomierter Frösche ist der Gehalt an Gesamtkohlenhydrat, Glykogen und freiem Zucker herabgesetzt, und zwar ist diese Erscheinung 6 Tage nach der Operation kaum angedeutet, aber sehr deutlich 15 Tage nach der Operation.

2. In ihrem Gehalt an Milchsäure und Hexosemonophosphat weisen die Muskeln hypophysektomierter Frösche keinen Unterschied auf gegenüber den Muskeln normaler Frösche.

3. Die experimentellen Befunde, sowie die in der Literatur vorliegenden Angaben gestatten den Schluss, dass die Hypophysenhormone nicht unmittelbar an der anaэробen Phase des Kohlenhydratstoffwechsels im Muskel beteiligt sind.

РОЛЬ ГИПОФИЗА В ОБМЕНЕ УГЛЕВОДОВ В МЫШЦАХ

СООБЩЕНИЕ II. ВЛИЯНИЕ УДАЛЕНИЯ ГИПОФИЗА НА ТЕЧЕНИЕ АНАЭРОБНОГО РАСПАДА УГЛЕВОДОВ В МЫШЦАХ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАНКРЕАТИЧЕСКОМ ДИАБЕТЕ

Н. Н. Яковлев

Из лаборатории физиологической химии (зав.—проф. Н. В. Веселкин)
Естественно-научного института
им. П. Ф. Лесгафта, Ленинград

Поступила в редакцию 23.II.1939 г.

Еще в 1911 г. Cushing (1) показал, что под влиянием удаления гипофиза повышается толерантность организма к углеводам, а в 1925 г. Cushing (2) и Davidoff (3) нашли, что течение сахарного диабета у людей под влиянием гипопизэктомии несколько улучшается.

Вслед за этим Houssay и его школой (4) было показано, что удаление гипофиза у лягушек, жаб и собак, лишенных поджелудочной железы, полностью или почти полностью устраняет у них проявления панкреатического диабета, как-то: гипергликемию, гликозурию и ацетонурию, и увеличивает длительность жизни таких животных.

Наконец, Houssay и Biasotti (5) и независимо от них Evans (7) удалось выделить из передней доли гипофиза «диабетогенное начало» — гормон, который, будучи введен нормальным животным, приводит у них к развитию полиурии, полидипсии, гипергликемии, гликозурии, ацетонурии и к значительной потере веса.

Таким образом, исходя из точки зрения Houssay, можно думать, что причиной сахарного диабета является именно это «диабетогенное начало»; в норме оно в известной мере «уравновешивается» инсулярной секрецией, а по выпадении последней приводит к такому нарушению обмена веществ, которое мы называем сахарным диабетом. Устраняя с помощью гипопизэктомии это начало, мы тем самым устраняем и диабет.

Однако, насколько полно это устранение диабета? Не устраняем ли мы с помощью гипопизэктомии только некоторые проявления его?

По данным Houssay, на этот вопрос ответить нельзя. Как известно, диабет является чрезвычайно сложным нарушением обмена веществ и особенно углеводного обмена. Не останавливаясь на всех сторонах этого сложного явления, мы обратимся пока только к одной из сторон его, а именно к анаэробной фазе обмена углеводов в мышцах.

Эта сторона углеводного обмена при сахарном диабете страдает весьма существенно, и в этом отношении диабетическая мышца (мы имеем в виду мышцу животного, лишенного поджелудочной железы) во многом принципиально отличается от нормальной. Так, если в нормальной мышце распадающийся под влиянием тех или иных агентов (мышечная работа, адреналин, асфиксия и т. п.) гликоген полностью идет на образование молочной кислоты, то в мышце диабетической только часть распадающегося при этом гликогена образует молочную кислоту, другая же часть выпадает из цепи реакций и накапливается в мышце в виде «промежуточных углеводов» — декстринов, мальтозы и глюкозы, вследствие чего при диабете скелетные мышцы также становятся существенным источником сахара крови. Далее, если усиление анаэробного распада углеводов в нормальной мышце сопровождается

увеличением стабилизации гексозофосфата, то в мышце диабетической мы имеем при этом снижение стабилизации. Наконец, если в нормальной мышце концентрация сахара в окружающей ее среде может регулировать интенсивность распада гликогена, то в мышце диабетической эта возможность утрачена [Яковлев (8, 9)].

Целым рядом авторов и нами (8, 9) было показано, что для нормального течения процессов анаэробного распада углеводов в мышцах необходимо участие инсулина, являющегося очень важным регулятором этого процесса. Что же касается гипофиза, то его участие в этом процессе нам обнаружить не удалось, так как течение анаэробного распада углеводов в мышцах гипофизэктомированных животных ничем не отличается их от нормальных [Яковлев (10)].

Таким образом, исходя из наших данных, трудно ожидать, чтобы «устранение» диабета с помощью гипофизэктомии действительно являлось полным устранением его.

С целью выяснения этого вопроса нами и было предпринято настоящее исследование, задачей которого является проследить течение анаэробного распада углеводов в мышцах животных, лишенных поджелудочной железы и гипофиза, и сравнить данные этих опытов с данными, полученными нами на нормальных и диабетических животных.

Постановка опытов¹

Опыты ставились на кошках и зимних лягушках. Все животные были разделены на две группы: у первой группы за 6—8 дней до опыта были одномоментно удалены гипофиз и поджелудочная железа², а у второй группы была удалена только поджелудочная железа и сделана «ложная операция гипофизэктомии», т. е. все те хирургические манипуляции, которые делаются при удалении гипофиза, но сам гипофиз удален не был.

Самый опыт на кошках ставился следующим образом. Под глубоким амиталовым наркозом у кошки перерезались оба седалищных нерва, и периферический конец правого нерва брался на электроды. Через 45—60 минут начиналось раздражение нерва прерывистым индукционным током, которое длилось 15 минут при расстоянии между катушками индуктория, равном 15 см. По прошествии этого времени обе мышцы — и работавшая, и покоившаяся, — быстро вырезались, замораживались в жидком воздухе и по измельчении шли на анализ.

Опыты на лягушках ставились совершенно аналогично опытам на кошках с той лишь разницей, что в этих опытах никакой наркоз не применялся, а расстояние между катушками индуктория равнялось 17 см.

В своем исследовании мы определяли в мышцах интересующие нас вещества, пользуясь следующими химическими методами: общее количество углеводов определяли по модифицированному (9) способу Bissinger и Lesser, гликоген по микрометоду Pflüger, гексозофосфат по Embden и Jost, свободный сахар по модифицированному (9) способу Bissinger и Lesser и молочную кислоту по Friedemann и Greaser.

Суммарное количество декстринов и мальтозы химически не определялось, а вычислялось из разности между общими углеводами и суммой гликогена, гексозофосфата и свободного сахара. Кроме того, во всех группах подопытных животных мы определяли процент сухого остатка мышц. Однако, так как величина его у нормальных, диабетических и гипофизэктомированных животных оказалась одинаковой (в среднем 20—21%), то все цифры в таблицах даны, исходя из расчета на «сырой вес».

Результаты опытов представлены в табл. 1 и 2.

Из приведенных таблиц мы прежде всего видим, что мышца животного, лишенного поджелудочной железы и гипофиза, несколько отличается от мышцы просто диабетического животного, но не является и нормальной.

Так, если мы будем сравнивать ее с диабетической мышцей, то увидим, что мышца животного, лишенного и поджелудочной железы, и

¹ Более подробное описание постановки опытов см. в наших предыдущих работах (9, 10).

² Полнота удаления гипофиза и поджелудочной железы проверялась во всех опытах на аутопсии.

Таблица 1. Распределение углеводов фракций и содержание молочной кислоты в покоящихся и работающих мышцах кошек (средние величины)

Серии опытов	Общее количество углеводов в мг%			Гликоген в мг%			Декстрин и мальтоза в мг%			Гексозофосфат в мг%			Свободный сахар в мг%			Молочная кислота в мг%			Сахар в крови в мг%	K_y^1	K_z^2
	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность			
Кошки, лишенные гипофиза и поджелудочной железы (7 опытов)	611	433	-178	457	221	-236	26	51	+25	72	52	-20	55	108	+53	34	69	+35	96	19,5	15,0
	752	604	-230	543	367	-320	63	94	+50	114	84	-30	70	127	+67	45	90	+45	115	40,6	42,5
	486	389	-92	302	125	-102	2	29	+12	51	39	-11	32	76	+13	25	48	+23	63	12,7	10,0
Кошки, лишенные поджелудочной железы и подвергнутые «ложной операции гипофизэктомии» (4 опыта)	748	546	-202	417	177	-240	36	66	+30	78	58	-20	216	244	+28	35	70	+35	280	17,3	14,6
	860	621	-261	512	319	-294	59	88	+63	98	65	-28	312	350	+45	44	84	+41	305	23,0	16,8
	62	343	-142	298	112	-202	10	33	+15	59	34	-12	124	148	+18	27	40	+16	264	9,8	12,3
Кошки, лишенные поджелудочной железы (6 опытов) ³	732	535	-197	411	169	-242	38	86	+48	84	65	-19	166	213	+47	35	63	+28	272	14,4	10,0
	777	589	-188	623	416	-207	2,6	1,5	-1,1	123	143	+20	33	34	+1,0	44	145	+101	83	54,0	49,0*

 K_y — коэффициент образования молочной кислоты на единицу распавшихся общих углеводов, помноженный на 100. K_z — тот же коэффициент на единицу распавшегося гликогена, помноженный на 100.³ Цифры этих двух серий опытов взяты из нашей предыдущей работы (8).

Т а б л и ц а 2. Распределение углеводных фракций и содержание молочной кислоты в покоящихся и работающих мышцах лягушек (средние величины)¹

Серии опытов	Общее количество углеводов в мг%			Гликоген в мг%			Гексозофосфат в мг% сахара			Свободный сахар в мг%			Молочная кислота в мг%			Сахар в крови в мг%	K _y	K ₂	
	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность	покой	работа	разность				
Лягушки, лишенные гипофиза и поджелудочной железы	Среднее	974	810	-164	329	179	-150	81	55	-25	62	90	+28	22	42	+20	81	13,7	11,5
	Максимум	1 150	1 050	-330	456	301	-257	104	84	-45	90	114	+61	42	61	+32	121	20,6	25,0
	Минимум	858	705	-75	232	90	-64	43	34	-1,6	37	52	-14	10	25	+5	48	8,03	2,0
Лягушки, лишенные поджелудочной железы и подвергнутые «ложной операции гипофизэктомии»	Среднее	1 102	901	-201	361	179	-182	82	61	-21	220	255	+35	27	48	+21	253	10,5	11,6
	Максимум	1 214	1 085	-217	459	367	-215	102	89	-52	254	325	+87	41	54	+29	318	21,4	18,2
	Минимум	793	684	-117	261	116	-163	62	45	-10	163	185	+23	14	19	+16	243	9,15	9,6
Лягушки, лишенные поджелудочной железы ²	Среднее	1 165	976	-189	350	185	-165	90	62	-28	211	262	+51	26	46	+20	248	12,3	11,04
	Среднее	1 208	1 021	-187	888	697	-191	162	198	+36	52	51	-1	48	109	+62	76	29,6	33,5
Нормальные лягушки	Среднее																		

¹ Каждая цифра—средняя величина из 10—12 опытов.² Цифры этих двух серий опытов взяты из нашей предыдущей работы.

гипофиза, беднее общим запасом углеводов, беднее гликогеном и свободным сахаром, чем мышца диабетическая. Однако количество декстринов и мальтозы в ней не ниже, а количество гексозофосфата и молочной кислоты не выше, чем в диабетической мышце. Одновременно с этим у всех животных, лишенных поджелудочной железы и гипофиза, отмечалось почти полное отсутствие гликозурии (только у 8 из 47 животных в моче были найдены следы сахара, у всех же остальных животных он отсутствовал) и сахар крови держался на нормальном уровне.

Все эти моменты, отличающие животных, лишенных поджелудочной железы и гипофиза, от животных диабетических (resp. лишенных одной только поджелудочной железы), являются следствием именно гипопизэктомии, так как диабетические животные, подвергнутые «ложной операции гипопизэктомии», дают типичную картину диабета.

Обращаясь, наконец, к тем изменениям, которые наступают под влиянием 15-минутной работы, мы видим, что они в мышцах животных, лишенных поджелудочной железы и гипофиза, полностью повторяют то, что мы имеем в диабетических мышцах, т. е. уменьшение стабилизации гексозофосфата, увеличение свободного сахара и других «промежуточных углеводов» и диспропорцию¹ между распадом гликогена и образованием молочной кислоты.

Таким образом, мы видим, что процессы анаэробного распада углеводов в мышцах животных, лишенных поджелудочной железы и гипофиза, протекают совершенно так же, как и у просто диабетических животных, несмотря на то, что исходное содержание углеводных фракций в мышцах было иное, чем при диабете, сахар крови имел нормальный уровень, а гликозурия отсутствовала.

Помимо опытов на мышцах *in situ*, нами были поставлены еще опыты и на изолированных мышцах. Такая постановка опытов является особенно желательной потому, что она исключает возможность потери образующихся в мышце веществ путем отдачи их в кровь и лимфу.

Эти опыты ставились совершенно аналогично опытам на изолированных мышцах, описанным в наших предыдущих работах (9, 10).

В основном постановка этих опытов заключалась в следующем. У лягушки, лишенной за 6—8 дней до опыта гипофиза и поджелудочной железы, перерезались оба седалищных нерва и периферический конец правого брался на лигатуры. Через 45—60 минут обе задние конечности быстро отсекались одним ударом ножниц, левая икроножная мышца сразу же замораживалась в жидком воздухе, измельчалась и шла на анализ, а правая в виде нервно-мышечного препарата помещалась в заполненную водородом камеру, где и раздражалась прерывистым индукционным током в течение 15 минут. По прошествии этого времени она извлекалась из камеры, замораживалась, измельчалась и шла на анализ.

Результаты этих опытов представлены в табл. 3.

Если мы сопоставим данные этих опытов с полученными нами в предыдущей работе данными опытов на изолированных мышцах нормальных и диабетических лягушек (см. вторую и третью графы табл. 3), то увидим, что и изолированные мышцы животных, лишенных гипофиза и поджелудочной железы, как и мышцы их *in situ*, повторяют ту картину, которую мы имеем в диабетических мышцах.

Следовательно, удаление гипофиза ни в коей мере не возвращает к норме течение анаэробной фазы обмена углеводов в мышцах, извращенной вследствие удаления поджелудочной железы (resp. выпадения ипсулина).

¹ То есть меньшее, чем в норме, образование молочной кислоты на единицу распавшегося гликогена (8, 9).

Обсуждение полученных результатов

Итак, прежде всего мы видим, что наши данные полностью подтверждают Houssay о том, что удаление гипофиза у животных, лишенных поджелудочной железы, приводит у них к понижению углеводных запасов и препятствует развитию гипергликемии и гликозурии. Однако наши результаты еще и дополняют данные Houssay новыми фактами.

Мы видим, что удаление гипофиза хотя и устраняет некоторые существенные симптомы диабета, однако приводит к норме не все нарушения, возникшие в обмене веществ вследствие выпадения инсулина. Во всяком случае течение анаэробного распада углеводов при этом не возвращается к норме.

Согласно данным Cori, пониженное при диабете окисление сахара есть следствие угнетения этого процесса гормонами передней доли гипофиза, а удаление гипофиза улучшает, повышает течение окислительных процессов при диабете. Далее, по мнению Houssay (12), гипофиз является железой, способствующей новообразованию сахара из углеводов и прежде всего из белков. Удаление гипофиза уменьшает сахарообразование, а тем самым уменьшает и источники гипергликемии и гликозурии.

Если бы диабетические нарушения обмена веществ имели в своей основе только повышенное сахарообразование и нарушенное, ослабленное окисление углеводов, если бы только эти процессы были при диабете первичными, то тогда можно было бы ждать, что гипофизэктомия устраняла бы диабет действительно в полной мере. Однако, не оспаривая вопроса о первичности повышенного сахарообразования и пониженного окисления углеводов при диабете, следует помнить, что в такой же мере первично при диабете поражается и анаэробная фаза углеводного обмена в мышцах, для которой весьма существенное значение имеет инсулин (8, 9) и к те-

Таблица 3. Содержание общих углеводов, свободного сахара и молочной кислоты в покоящихся и работающих изолированных мышцах лягушек (средние величины)

Серии опытов	Общее количество углеводов в мг%			Свободный сахар в мг%			Молочная кислота в мг%			K _y
	по- кой	рабо- та	раз- ность	по- кой	рабо- та	раз- ность	по- кой	рабо- та	раз- ность	
Мышцы лягушек, лишенных поджелудочной железы и гипофиза	854	737	— 117	58	107	+ 49	21	97	+ 76	66,14
	964	851	— 136	75	140	+ 100	31	120	+ 102	90,0
	716	601	— 106	4)	89	+ 24	11	84	+ 61	45,0
Мышцы нормальных лягушек ²	1 175	995	— 180	51	46	— 5	41	255	+ 214	118,0
Мышцы диабетических лягушек ²	1 041	943	— 98	151	250	+ 99	22	103	+ 81	92,0

¹ Каждая цифра в этой графе—средняя величина из 5 опытов.

² Цифры взяты из нашей предыдущей работы.

чению которой гипофиз не имеет непосредственного отношения (10). Поэтому вполне понятно, что удаление гипофиза не устраняет тех нарушений, которые мы имеем в анаэробной фазе обмена углеводов в мышцах при панкреатическом диабете, а следовательно, отвечая на поставленный в начале работы вопрос, мы можем сказать, что «устранение» диабета с помощью гипофизэктомии не является полным, хотя оно и возвращает к норме весьма существенные стороны углеводного обмена, нарушенные при диабете.

В заключение следует остановиться еще на одном моменте, который на первый взгляд стоит в противоречии с данными настоящей работы.

В настоящей работе нами было показано, что при усилении анаэробного распада углеводов в мышцах животных, лишенных гипофиза и поджелудочной железы, как и в мышцах «диабетических животных», происходит накопление «промежуточных углеводов» и, в частности, свободного сахара. Следовательно, мышцы этих животных, как и мышцы диабетических животных, становятся одним из источников сахара крови (10). Наряду с этим, несмотря на наличие в организме необычного источника сахара крови, гипергликемия у животных, лишенных гипофиза и поджелудочной железы, отсутствует.

Однако это противоречие только кажущееся. Во-первых, мышцы при диабете не являются основным источником гипергликемии, во-вторых, хотя у животных, лишенных гипофиза и поджелудочной железы, мы и имеем обычный для нормальных животных уровень сахара крови, он является все же несколько повышенным для гипофизэктомированных животных, которым свойственна гипогликемия. Следовательно, повышенное сахарообразование в мышцах не стоит в противоречии с «нормальным» уровнем сахара крови у животных, лишенных гипофиза и поджелудочной железы.

В ы в о д ы

1. Удаление гипофиза у животных, лишенных поджелудочной железы, препятствует развитию ряда проявлений сахарного диабета, что вполне подтверждает данные школы Houssay.

2. У кошек и лягушек, лишенных поджелудочной железы и гипофиза, сахар крови и свободный сахар мышц имеют практически нормальный уровень, а гликозурия отсутствует, и только в 8 из 47 опытов в моче были обнаружены следы сахара.

3. Общие запасы углеводов, равно как и содержание гликогена, в мышцах таких животных значительно ниже, чем в мышцах животных, лишенных только поджелудочной железы.

4. Содержание гексозофосфата и молочной кислоты в мышцах животных, лишенных поджелудочной железы и гипофиза, держится на низких, диабетических цифрах.

5. Течение анаэробного распада углеводов при 15-минутной мышечной работе в мышцах животных, лишенных поджелудочной железы и гипофиза, ничем не отличается от течения этого процесса в мышцах диабетических животных.

6. После 15-минутной работы в мышцах животных, лишенных поджелудочной железы и гипофиза, как и в мышцах животных, лишенных одной только поджелудочной железы, имеются диспропорция между распадом гликогена и образованием молочной кислоты, накопление в мышцах «промежуточных углеводов» и снижение стабилизации гексофосфата.

7. Все перечисленные данные получаются в равной мере и на мышцах *in situ*, и на изолированных мышцах.

8. На основании данных эксперимента можно констатировать, что удаление гипофиза не возвращает к норме извращенное, вследствие выпадения инсулина, течение анаэробной фазы обмена углеводов в мышцах.

9. Гипофизэктомия полностью не устраняет явления диабета, а приводит к норме только часть имеющихся при этом нарушений обмена веществ.

10. Данные настоящей работы еще раз подтверждают важность участия инсулина в анаэробной фазе обмена углеводов в мышцах.

ЛИТЕРАТУРА

1. Cushing, Goetsch u. Jacobson, Bull. Hopkin's Hosp., 22, 1651, 1911.—
2. Cushing, Studies in intracranial physiology a. surgery. Oxford, 1925.—3. Cushing u. Davidoff, Arch. int. Med., 39, 1927.—4. Houssay u. Biasotti, Revista de la Soc. Argent. de Biol., 6, 8, 251, 1930; 7, 3, 1931; Pflüg. Arch. 227, 239, 664, 1931; C. r. Soc. biol., 105, 121, 124, 126, 1930; 107, 733, 1931.—5. Houssay, Bull. Acad. Méd. Buenos Aires, 171, 1932.—6. Houssay, Biasotti u. Rietti, C. r. Soc. Biol., 115, 329, 323; 325, 1934; Biasotti, C. r. Soc. biol., 116, 455, 117, 54, 1934.—7. Evans, Proc. exp. biol. a. med., 30, 1370, 1933.—8. Яковлев, Изв. Научн. ин-та им. Лесгафта, XXI, 65, 1938.—9. Яковлев, Физиол. журн. СССР (сдано в печать).—10. Яковлев, Физиол. журн. СССР (сдано в печать).—11. Cori, Russel u. Fisher, Journ. biol. chem., 115, 627, 1937; Meyer, Wade u. Cori, Proc. Soc. exp. biol. a. med., 36, 346, 1937; Fisher u. Pincharz, Proc. Soc. exp. biol. a. med., 34, 106, 1934.—12. Houssay, Klin. Wschr., Nr. 37, 1529, 1932; Endocrinol., 15, 511, 1931.

DIE ROLLE DER HYPOPHYSE BEIM KOHLENHYDRATSTOFFWECHSEL IM MUSKEL

MITTEILUNG 2. EINFLUSS VON ENTFERNUNG DER HYPOPHYSE AUF DEN VERLAUF DES ANAEROBEN KOHLENHYDRATABBAUS IM MUSKEL BEIM EXPERIMENTELLEN PANKREATISCHEN DIABETES

N. N. Jakowlew

Laboratorium f. physiologische Chemie
(Vorst.; Prof. N. W. Wesselkin) des
Naturwissenschaftl. P. F. Lesshaft-
Instituts, Leningrad

1. Bei depankreatisierten Tieren verhindert Exstirpation der Hypophyse die Ausbildung vieler Äusserungen des Pankreas-Diabetes, in Übereinstimmung mit den Befunden der Houssay'schen Schule.

2. Bei pankreas- und hypophysenlosen Katzen und Fröschen sind die Werte des Blutzuckers und des freien Zuckers in den Muskeln praktisch normal und die Glukosurie bleibt aus: von 47 Versuchen wurden nur in 8 Zuckerspuren im Harn vorgefunden.

3. Der gesamte Kohlenhydratvorrat sowie der Glykogengehalt in den Muskeln solcher Tiere ist geringer, als in den Muskeln von Tieren, bei denen nur das Pankreas entfernt worden ist.

4. Der Hexosephosphat- und Milchsäure-Gehalt der Muskeln pankreas- und hypophysenloser Tiere hält sich auf niedrigen, diabetischen Werten.

5. Der Ablauf des anaeroben Kohlenhydratabbaus bei 15 Minuten dauernder Muskelarbeit unterscheidet sich in den Muskeln von pankreas- und hypophysenlosen Tieren in keiner Weise von dem Ablauf dieses Prozesses in den Muskeln diabetischer Tiere.

6. Es besteht sowohl in den Muskeln von pankreas- und hypophysenlosen Tieren, wie in den Muskeln einfach pankreatektomierter Tiere ein Missverhältnis zwischen Glykogenabbau und Milchsäurebildung,—eine An-

häufung von «Zwischenkohlenhydraten» im Muskel und eine Verminderung der Stabilisierung von Hexosephosphat.

7. Alle aufgezählten Befunde lassen sich sowohl an Muskeln *in situ* als auch an isolierten Muskeln feststellen.

8. Auf Grund der experimentellen Befunde lässt sich feststellen, dass die Entfernung der Hypophyse den infolge des Ausfalls von Insulin gestörten Ablauf der anaëroben Phase des Kohlenhydratstoffwechsels im Muskel nicht wiederherzustellen vermag.

9. Hypophysektomie beseitigt die Erscheinungen des Diabetes nicht vollständig, sondern sie bringt nur einen Teil des vorhandenen Stoffwechselstörungen zum Verschwinden.

10. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen nochmals die wesentliche Beteiligung des Insulins bei der anaëroben Phase des Kohlenhydratstoffwechsels im Muskel.

РЕГУЛЯЦИЯ СОДЕРЖАНИЯ САХАРА В КРОВИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛОВОГО ЦИКЛА

СООБЩЕНИЕ I. АЛИМЕНТАРНАЯ ГИПЕРГЛИКЕМИЯ В РАЗЛИЧНЫЕ ФАЗЫ ОВАРИАЛЬНОГО ЦИКЛА У СОБАК

Л. Г. Лейбсон и Р. С. Лейбсон

Из отдела эволюционной физиологии Биологической станции им. акад. И. П. Павлова (дир. — акад. Л. А. Орбели) и физиологической лаборатории (зав. Л. Г. Лейбсон) Ленинградского института охраны здоровья детей и подростков

Поступила в редакцию 2.VII.1939 г.

Изучая влияние некоторых факторов на течение алиментарной гипергликемии у собак, мы обратили внимание на периодические колебания в реакции самок на введение сахара. Внимательное рассмотрение материала обнаружило, что эти периодические колебания связаны так или иначе с явлением течки.

В литературе имеются многочисленные указания относительно зависимости различных процессов в организме от женского полового цикла (Zuntz). Большинство из имеющихся сведений относится к человеку и носит отрывочный характер. Ряд работ все же имеет прямое отношение к интересующему нас вопросу. Так, Heilig, а затем Kahler нашли, что во время менструации содержание сахара в крови после приема глюкозы поднимается выше и держится дольше, чем в межменструальном периоде. Аналогичные результаты были получены недавно Blösch и Bergel, изучавшими алиментарную гипергликемию в различные фазы менструального цикла у женщин. Сюда относятся и указания Noorden, Rosenbloom и Papetkorn о том, что выносливость по отношению к углеводам у женщин-диабетиков во время менструации падает. Kahler, Heilig, Frey, Czarzka отмечают, что у некоторых здоровых женщин во время менструаций наступает легкая гликозурия. Относительно толкования этих явлений перечисленные авторы высказывают различные предположения, не обосновывая их, однако, экспериментально.

Приведенный перечень работ следует дополнить интересным наблюдением Riddle и Rheinart, что во время овуляции у голубей и уток происходит повышение сахара в крови.

Другая серия работ, относящихся к изучаемой нами проблеме, касается эффекта введения половых гормонов, главным образом фолликулина, на различные стороны углеводного обмена. Этих работ мы касаемся ниже при обсуждении полученных нами экспериментальных данных.

Современная литература, таким образом, с достаточной убедительностью свидетельствует о существовании связи регуляции углеводного обмена с половой функцией. Однако совершенно очевидно, что физиологический характер этой связи не может считаться в какой-либо мере удовлетворительно освещенным, а между тем проблема взаимодействия желез внутренней секреции в различных проявлениях жизнедеятельности и, в частности, в регуляции углеводного обмена приобретает в последнее время особую актуальность. Это и побудило нас заняться прежде всего проверкой сделанного нами наблюдения о зависимости алиментарной гипергликемии от фазы овариального цикла с тем, чтобы подвергнуть в дальнейшем этот факт физиологическому анализу.

Методика

Опыты производились на 2 собаках (Нора и Слива). Алиментарная гипергликемия вызывалась путем кормления собак пиленым тростниковым сахаром [5 г на 1 кг веса (Нора) и 4 г на 1 кг веса (Слива)]. Кровь для анализа бра-

лась из уха за 45, 30 и 15 минут до кормления и через 5, 10, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 140, 160 и 180 минут после кормления. Определение сахара в крови производилось по методу Hagedorn-Jensen, всегда в двух параллельных пробах.

Алиментарная гипергликемия изучалась у каждой из собак на протяжении нескольких месяцев (у Норы — 10 месяцев, у Сливы — 5). Таким образом, наблюдением было охвачено у первой собаки около двух половых циклов, у второй — один. Опыты, как правило, производились дважды в шестидневку, в некоторых случаях — один раз, в исключительных случаях — реже. Ориентиром в отношении стадии полового цикла служило начало видимого выделения крови из половых органов.

Результаты опытов

Алиментарная гипергликемия после введения указанной дозы сахара имела следующее типичное течение. Вслед за крутым подъемом, который начинался обычно через 10—20 минут после кормления, содержание сахара в крови держалось около 1—1,5 часа на высоком уровне и затем медленно снижалось до нормы. Отрезок времени, в течение которого обычно длилась гипергликемия, равнялся примерно 2,5—3 часам. Такое типичное течение «сахарной кривой» сохранялось в течение всех наших исследований, однако высота гипергликемии, а подчас и длительность существенно менялись в зависимости от фазы полового цикла.

Прежде чем перейти к изложению добытого цифрового материала, следует дать некоторые пояснения относительно способа расчета, к ко-

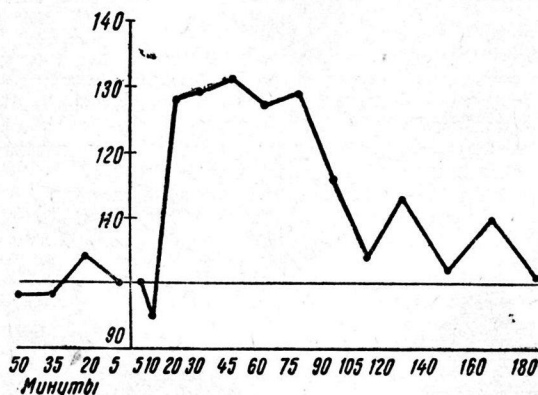


Рис. 1. Типичная кривая алиментарной гипергликемии у собаки Сливы. Тонкая линия, проведенная параллельно оси абсцисс на уровне ординаты, соответствующей 100, и кривая гипергликемии образуют многоугольник, площадь которого (S) может служить критерием величины гипергликемии (см. текст)

торому мы прибегали. В целях единообразной оценки эффекта сахарной нагрузки мы во всех случаях пользовались не абсолютным содержанием сахара в крови, а, приняв средний уровень сахара в крови до нагрузки за 100, выражали все дальнейшие данные в процентах от этой величины.

Подвергнутые такому пересчету данные приведены в табл. 1 и 2, объединяющих опыты на Норе (табл. 1) и Сливе (табл. 2).

Далее, для того чтобы иметь возможность графически отобразить весь полученный нами за несколько месяцев материал, — а без этого периодические колебания не могли бы быть наглядно показаны, — было крайне желательно найти способ оценки гипергликемической кривой в одном числе. Мы могли бы для этой цели воспользоваться, например, максимальным подъемом сахара в данном опыте. Однако наиболее пригодной для такой количественной характеристики гипергликемической кривой нам представляется величина площади, ограниченной этой кривой и линией, проведенной параллельно оси абсцисс на уровне ординаты, соответствующей 100. Рис. 1 дает наглядное представление об этой площади. Для расчета мы пользовались формулой:

$$S = \frac{1}{2} (X_2 - X_1) (Y_2 + Y_1) + (X_3 - X_2) (Y_3 + Y_2) + (X - X) (Y + Y).$$

где X — время, а Y — избыточное количество сахара.

Таблица 1. Алиментарная гипергликемия у Норы

Дата опыта	Время взятия пробы крови в минутах																	S	
	до кормления сахаром		после кормления сахаром																
			50	35	20	5	10	20	30	45	60	75	90	105	120	140	160		180
	Т е ч к а																		
Начало сентября 1936 г.	98	101	101	101	96	86	100	121	109	112	108	111	110	110	101	—	97	99	1 013
	103	102	101	98	99	110	128	111	113	111	110	98	104	104	102	101	92	96	928
	98	98	101	103	102	96	132	123	123	125	112	93	107	107	102	102	97	100	1 618
	—	102	101	96	100	99	99	98	128	123	131	110	117	103	103	105	105	103	1 635
	103	101	98	96	99	101	125	136	139	140	132	100	107	108	107	100	100	100	2 750
	100	101	99	100	101	112	119	118	124	124	128	128	124	123	118	114	100	98	3 463
	103	99	97	101	98	93	117	118	111	127	127	126	104	101	102	100	96	96	1 710
	95	101	99	99	99	111	136	139	131	127	131	126	99	99	99	109	104	99	2 660
	92	102	101	98	98	99	117	129	129	130	131	116	95	106	106	117	100	101	2 523
	99	99	100	101	94	112	138	141	140	141	138	118	103	111	101	101	100	96	3 230
	104	99	100	97	100	120	155	142	150	155	146	140	110	112	104	97	100	100	3 950
	101	99	100	100	99	119	146	134	137	138	135	145	135	124	101	96	97	101	4 295
	100	101	100	99	102	111	140	147	146	145	155	132	107	114	106	101	107	101	4 215
	100	100	100	100	102	100	125	136	142	134	128	138	134	110	115	104	101	101	3 815
	5. I. 1937 г.	91	99	106	106	108	115	138	—	142	138	144	133	101	104	114	105	101	101
103		100	100	98	101	128	152	158	146	143	140	140	124	116	108	100	96	96	4 790
99		99	101	99	102	96	110	111	123	132	128	126	132	126	103	113	108	108	3 143
101		101	98	99	100	117	132	131	125	126	125	126	108	108	99	99	97	97	2 585
15. I	Первый день выделения крови																		
	103	98	96	103	103	137	129	124	120	124	124	121	120	117	85	99	95	95	3 023
20. I	100	100	101	100	100	115	—	131	128	122	122	118	115	104	108	102	92	92	2 465

Дата опыта	Время взятия пробы крови в минутах																		S
	до кормления сахаром					после кормления сахаром													
	50	35	20	5		5	10	20	30	45	60	75	90	105	120	140	160	180	
23.I	104	98	99	98	98	100	138	148	157	153	—	112	107	116	116	100	109	106	3 690
26.I	102	101	99	98	98	95	115	131	120	120	123	127	117	115	115	106	98	100	2 225
29.I	100	95	101	101	102	117	123	122	123	122	127	120	123	123	122	91	101	98	2 740
8.II	101	99	99	102	103	123	121	123	124	121	121	100	115	109	105	101	101	—	2 043
14.II	103	100	98	97	96	106	114	119	124	119	115	108	99	104	108	106	106	101	1 693
20.II	97	100	101	101	98	114	126	120	123	132	126	101	100	100	99	101	101	97	1 750
25.II	100	101	100	100	96	97	118	112	119	119	116	113	101	103	107	106	106	96	1 480
9.III	101	100	100	100	100	133	139	143	134	130	138	124	96	103	108	—	—	—	3 225
14.III	103	101	99	96	92	93	119	116	117	132	127	116	119	111	106	93	101	101	2 368
20.III	—	—	99	100	97	98	127	141	139	138	136	138	97	112	114	99	106	105	3 748
8.IV	96	98	103	102	98	98	121	119	120	132	124	124	105	102	114	117	98	101	2 568
14.IV	98	98	104	100	100	95	128	129	131	127	129	116	104	113	102	110	101	101	2 675
21.IV	99	99	99	101	98	95	125	135	126	130	139	128	109	127	115	106	106	106	3 440
27.IV	97	100	105	99	100	96	122	126	135	131	128	126	114	114	114	102	99	101	3 080
5.V	103	100	99	101	100	103	138	144	142	137	138	102	115	108	105	106	106	106	4 110
9.V	98	100	100	100	102	126	139	143	150	139	139	139	134	132	121	111	101	101	5 448
15.V	99	99	100	102	104	135	128	139	161	166	158	156	150	147	112	100	99	99	6 458
21.V	93	102	101	101	104	99	100	121	124	120	116	124	123	124	124	127	102	102	3 455
Первый день выделения крови																			
27.V																			
28.V	101	98	99	98	98	96	127	122	122	131	125	126	127	124	109	102	100	100	3 110
4.VI	99	101	100	101	92	114	123	118	110	118	123	99	101	110	105	99	95	95	1 500
9.VI	102	100	100	96	98	106	114	114	124	126	120	112	97	98	104	104	106	106	1 560
15.VI	99	104	100	95	90	89	109	111	108	114	120	110	108	110	104	99	101	101	1 803
21.VI	102	98	98	100	97	—	118	119	115	119	123	118	104	102	100	100	98	98	1 498
26.VI	104	99	99	98	106	123	128	114	116	120	120	118	122	126	123	98	103	103	2 968

Таблица 2. Алиментарная гипергликемия у Слывы

Дата опыта	Время взятия пробы крови в минутах																	S
	до кормления сахаром				после кормления сахаром													
	35	20	5		5	10	20	30	45	60	75	90	105	120	140	160	180	
1938 г.																		
16. III	96	103	103	101	103	99	109	121	127	130	127	133	129	124	120	105	3500	
22. III	99	101	100	98	116	131	115	120	121	120	102	101	106	107	104	104	1710	
25. III	102	99	100	104	105	126	117	114	117	117	115	111	111	95	95	104	1830	
28. III	99	100	101	100	117	110	107	113	109	114	117	111	115	105	99	100	1590	
1. IV	101	98	101	102	125	105	113	104	112	121	108	119	108	96	106	101	1550	
4. IV	102	99	98	98	100	109	106	102	101	98	102	109	105	101	103	99	430	
9. IV	106	98	100	100	104	107	104	108	104	104	102	106	108	108	103	99	870	
13. IV	102	100	97	102	98	109	107	107	109	107	108	99	105	105	102	99	710	
16. IV	105	99	95	93	96	102	106	108	114	113	115	92	90	101	92	96	830	
19. IV	103	100	102	94	101	114	100	105	105	103	105	105	94	95	100	—	490	
21. IV	—	100	99	98	89	133	120	99	121	122	119	115	122	118	99	101	2480	
27. IV	101	98	100	99	100	133	115	111	112	106	100	102	111	100	100	101	1180	
31. IV	102	99	98	109	120	104	109	107	110	108	109	123	113	109	89	97	1670	
7. V	106	96	96	94	96	99	120	106	114	112	109	106	104	88	93	96	1030	
10. V	102	100	99	94	93	101	111	112	115	112	111	110	109	110	93	93	1350	
13. V	99	100	102	109	123	130	123	126	132	130	123	118	115	102	106	101	3160	
16. V	101	100	98	100	121	108	112	112	115	119	116	112	98	100	105	104	1640	
27. V	101	99	—	99	90	102	100	100	113	112	117	116	114	113	106	89	1490	
7. VI	102	100	99	90	87	102	102	101	111	109	113	113	111	107	101	97	1020	
10. VI	104	96	101	94	91	113	116	107	116	122	123	128	122	120	106	106	2660	
15. VI	102	98	101	102	117	109	109	111	105	110	122	101	98	93	97	97	780	
19. VI	100	100	99	111	120	118	107	117	118	118	122	116	111	112	104	105	2380	
23. VI	101	101	99	92	102	112	116	118	116	116	126	122	102	120	113	106	2600	
27. VI	99	101	101	105	127	124	119	121	125	128	123	125	127	104	100	108	3010	
1. VII	101	98	100	99	102	121	107	112	122	118	118	114	123	122	103	103	2400	
7. VII	101	99	101	98	95	120	115	123	129	131	129	129	118	110	115	101	3320	
9. VII	101	102	101	106	95	111	129	122	116	108	117	117	129	122	116	104	2980	
14. VII	101	99	100	98	108	124	115	100	114	116	117	124	119	109	98	101	2070	
19. VII	100	100	101	100	92	101	98	107	113	113	116	105	114	107	109	102	1380	
23. VII	113	93	93	94	104	106	114	110	113	107	119	119	112	117	113	107	2130	
27. VII	99	100	101	100	93	108	102	109	102	108	106	108	101	102	109	102	920	
31. VII	96	100	105	100	117	121	108	113	106	114	114	108	108	111	110	112	1940	
4. VIII	96	100	105	100	96	108	107	103	108	107	109	107	110	105	92	95	1950	
9. VIII	104	98	99	99	104	102	118	109	113	120	113	114	96	100	104	99	1260	
15. VIII	103	99	97	92	104	102	118	109	113	120	113	114	96	100	104	99	—	

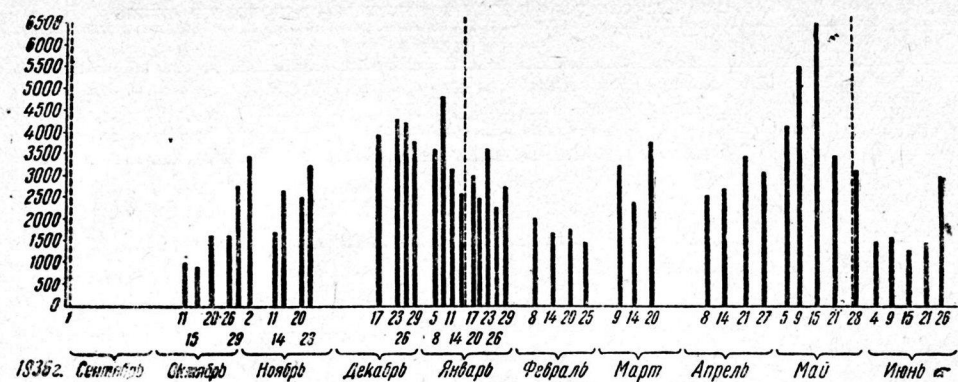


Рис. 2. Изменения в величине гипергликемии на протяжении полового цикла у собаки Норы. Столбиками нанесены значения площади S. Прерывистая линия—первый день выделения крови

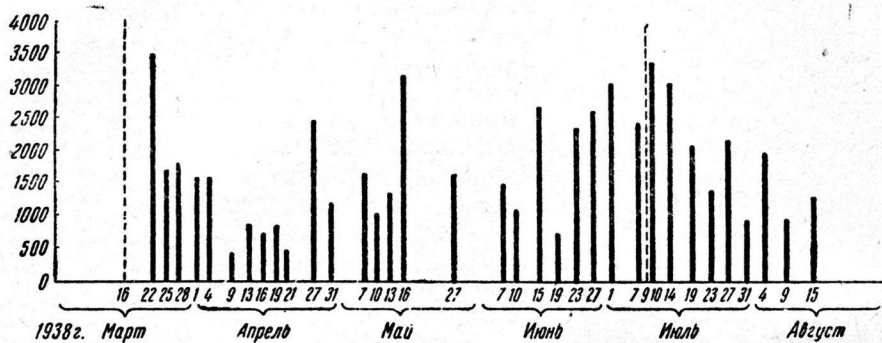


Рис. 3. Изменения в величине гипергликемии на протяжении полового цикла у собаки Сливы. Столбиками нанесены значения площади S. Прерывистая линия—первый день выделения крови

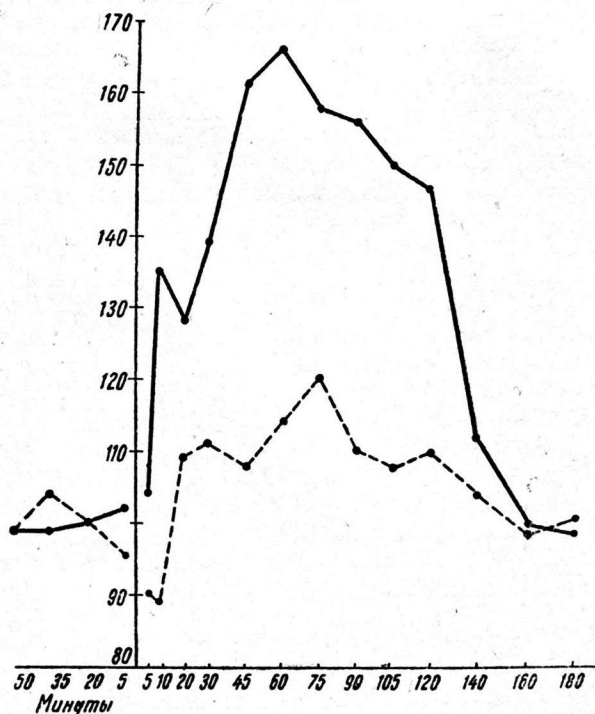


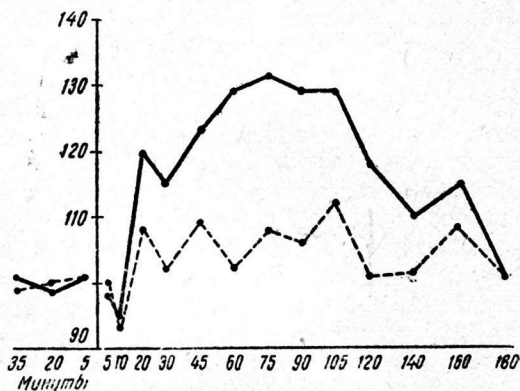
Рис. 4. Самая высокая и самая низкая кривые алиментарной гипергликемии внутри одного и того же полового цикла у собаки Норы

Вычисленные нами для каждого опыта величины S приведены в последней графе табл. 1 и 2. Графически они представлены на рис. 2 и 3.

Как следует из таблиц и рисунков, величина алиментарной гипергликемии претерпевает на протяжении изученных нами отрезков времени определенные волнообразные изменения. Эти изменения совершенно отчетливо сопряжены с периодическими явлениями в половой сфере собаки.

Дней за 20—25 до видимого выделения крови из влагалища наблюдается резкое повышение гипергликемических кривых. Нарастание это прогрессирует и достигает своего максимума в непосредственной близости к моменту выделения крови. У Норы максимум предшествует на

Рис. 5. Самая высокая и самая низкая кривые алиментарной гипергликемии внутри одного и того же полового цикла у собаки Сливы



несколько дней этому моменту, у Сливы следует через некоторое время после него. Затем величина гипергликемии постепенно падает. Особенно резкое падение ее наблюдается примерно через месяц после появления крови и около 20 дней она держится на крайне низких цифрах. Затем кривые гипергликемии вновь становятся выше, приобретают довольно пестрый характер, колеблясь все же около каких-то средних значений. Так продолжается примерно 2 месяца, до нового подъема перед течкой.

Для того чтобы иметь наглядное представление о разнице в течении алиментарной гипергликемии в стадии высоких и низких кривых, мы приводим по две гипергликемические кривые для каждой из собак (рис. 4 и 5). Сплошной линией нанесена самая высокая кривая, относящаяся к данному половому циклу, прерывистой линией — самая низкая кривая.

Таким образом, у собак на протяжении полового цикла наблюдаются вполне закономерные изменения в реакции организма на введение сахара.

Следует отметить, что нормальный уровень сахара в крови не претерпевает в связи с половым циклом заметных изменений.

Обсуждение результатов

Не приходится сомневаться в том, что в основе наблюдаемых изменений в регуляции содержания сахара в крови лежат сложные гормональные сдвиги, происходящие в организме на протяжении полового цикла.

Прежде чем попытаться ответить на вопрос, как эти сдвиги связаны с регуляцией сахара в крови, необходимо привести хотя бы краткие сведения, касающиеся овариального цикла у собак.

Течка происходит у собак обычно два раза в год, весной и осенью, иногда три раза. Каждый цикл занимает, таким образом, от 4 до 6 месяцев. Он может быть разбит на следующие фазы (Marshall и Jolly, Evans и Cole): проэструс (от первого выделения крови до допущения самца), эструс (время допущения самца), метаэструс (от конца предыдущей стадии до ликвидации изменений в слизистой оболочке матки), анэструс (от конца метаэструса до следующего проэструса). Примерная длительность отдельных фаз по Evans и Cole: проэструс — от 4 до 13 дней, в среднем 9; эструс — от 4 до 13 дней, в среднем 9; проэструс и эструс вместе — от 13 до 21 дня, в среднем 18. Длительность метаэструса 2—3 месяца. Остальная часть цикла занята анэструсом. Овуляция приходится на первые дни эструса и обычно происходит на 2-й или 3-й день после допущения самца.

Если мы сопоставим эти сведения с результатами наших опытов, то должны будем прийти к заключению, что стадия нарастающих кривых приходится на поздние недели анэструса; высокие кривые держатся во время последних дней анэструса и проэструса (у одной из собак еще до начала последнего намечается перемена в величине кривых). Для эструса и начала метаэструса характерно снижение кривых. Особенно низкими кривыми отмечена первая пора метаэструса. Во второй половине метаэструса или в начале анэструса кривые гипергликемии вновь увеличиваются и держатся на среднем уровне до нового подъема к концу анэструса.

Такое отнесение особенностей в регуляции гликемии к определенным фазам полового цикла является, конечно, приблизительным, однако оно дает нам возможность как-то подойти к анализу добытого материала.

В самом деле, какие сдвиги в гормональной сфере совпадают с той или иной из перечисленных фаз? Обратимся прежде всего к яичнику. Что разыгрывается в нем к концу анэструса, когда кривые алиментарной гипергликемии день ото дня становятся все выше и выше? Гистологически в это время происходит образование многочисленных новых фолликулов. Сначала преобладают мелкие и средние фолликулы, затем появляются и крупные (Evans и Swezy). В эту пору, очевидно, имеет место усиленное поступление в кровь фолликулярного гормона. Именно эта усиленная секреция фолликулина, как доказано многочисленными исследованиями (Zondek и др.), и приводит к течке. Имеются ли какие-либо основания связывать больший размах алиментарной гипергликемии в этот период с увеличением секреции фолликулина? На этот вопрос, несмотря на отсутствие единства мнений в литературе, мы можем ответить утвердительно. Целый ряд авторов указывает на то, что фолликулин безразличен для углеводного обмена, что влияние его сказывается в усиленной склонности к гипергликемии (Rathery, Kourilsky и Gilbert, Collazo и Marti, Изаксон). Участвует ли он непосредственно в регуляции сахара в крови, вовлекает ли другие железы внутренней секреции или модифицирует эффект других гормонов, заведомо причастных к регуляции углеводного обмена, мы сказать не можем. Имеются указания, что фолликулин уменьшает чувствительность к инсулину (Dickens, Dodds и Wright). Так или иначе, нарастание кривых алиментарной гипергликемии в пору, когда мы можем ожидать увеличения секреции фолликулина яичниками, может найти свое объяснение.

Аналогичным путем мы можем истолковать уменьшение алиментарной гипергликемии во время эструса, когда после овуляции поступление фолликулина в кровь, повидимому, резко снижается. Правда, у одной из собак мы наблюдали уменьшение гипергликемии даже до начала проэструсного кровотечения. Но мы не знаем, не происходит ли уже в это время, в связи с начавшейся атрезией мелких и средних фолликулов, уменьшение секреции фолликулина.

Мы могли бы этими объяснениями ограничиться при толковании обнаруженных нами особенностей в ходе кривой гипергликемии. Однако весьма возможно участие и другого гормона яичников, а именно гормона

желтого тела. Секретия этого гормона («прожестина» по Zondek) происходит в послеовуляционном периоде, т. е. приходится на первую пору метаэструса. В это время, как нам удалось показать, величина алиментарной гипергликемии особенно мала. Хотя о роли прожестина в углеводном обмене мы знаем еще меньше, чем о роли фолл кулина, однако в литературе имеется одно указание, которое может помочь нам в понимании наблюдаемого явления. Именно Engelhart и Raml нашли, что прожестин способствует синтезу гликогена и усиливает эффект инсулина; если это так, то нельзя ли именно этим объяснить особенно низкие кривые, наблюдаемые через 20—30 дней после начала проэструса.

Мы не можем не обратить внимания на значительное расхождение результатов, полученных нами на собаке, от добытых на человеке. В самом деле, и Heilig, и Kahler, и Blösch с Bergel нашли увеличение размаха гипергликемии в менструальном периоде. Как сейчас установлено многими исследователями, менструация у людей соответствует примерно середине между двумя овуляциями. В этот период можно было бы ожидать, исходя из наших данных, лишь начала стадии нарастания кривых гипергликемии. На самом же деле, как указывают приведенные выше авторы, на этот период приходится особенно высокие кривые. Объяснение этому факту, может быть, следует искать в особенностях секретии фолликулина человеческим яичником. А именно, в отличие от других млекопитающих, фолликулин выделяется у человека и желтым телом, что значительно усложняет картину.

Приведенное нами толкование наших опытов как результат воздействия двух гормонов яичника — фолликулина и прожестина — не является единственно возможным. Мы можем остановить свое внимание на другой железе, играющей активную роль в половой деятельности, на гипофизе. Участие передней доли гипофиза в явлениях течки и беременности может считаться твердо установленным. Передней же доле гипофиза, как также твердо установлено, принадлежит и видная роль в регуляции углеводного обмена. Правда, Луске нашел, что пролан не способен вызвать эффект, присущий контраинсулярному гормону передней доли, т. е. вызвать увеличение сахара в крови у гипофизо- и панкреатомированной собаки. Young также сообщает, что гонадотропные и гликоптропные вещества гипофиза различны. Однако мы не можем все же утверждать, что между этими двумя функциями гипофиза не существует никакой связи.

Далее, описано также участие в половом цикле щитовидной железы (Гурылева), в свою очередь далеко не безразличной для углеводного обмена.

Мы видим, таким образом, что причины своеобразия реакции организма на введение сахара, присущего каждой фазе полового цикла, могут корениться в сложной перестройке функций целого ряда желез внутренней секреции. Если же принять во внимание, что несомненное участие в этой перестройке принимает и вегетативная нервная система, то станет ясным, перед каким запутанным комплексом явлений оказывается экспериментатор и как недостаточны наши знания о подлинном взаимодействии отдельных компонентов сложной физиологической системы, контролирующей углеводный обмен и обеспечивающей постоянство уровня сахара в крови.

В настоящее время мы можем лишь выразить надежду, что в результате дальнейших экспериментов мы сможем приблизиться к более полному пониманию изучаемого нами явления.

Выводы

1. Регуляция содержания сахара в крови претерпевает на протяжении оварияльного цикла существенные изменения. Об этом свидетельствует неодинаковое течение алиментарной гипергликемии в различные фазы цикла.

2. По характеру кривой алиментарной гипергликемии весь половой цикл может быть разбит на несколько стадий: стадия нарастания кривых приходится на вторую половину анэструса; стадия спадения начинается непосредственно до или вскоре после проэструсного кровотечения; особенно низкие кривые приходятся примерно на первую половину метаэструса; остальная часть цикла занята кривыми, колеблющимися около некоторой средней величины.

3. Обнаруженные периодические колебания в течении алиментарной гипергликемии у собаки могут быть объяснены участием в регуляции углеводного обмена целого ряда эндокринных желез, играющих ту или иную роль в женском половом цикле. Относительно характера этого участия и факторов, обусловливающих вышеописанные периодические колебания, сейчас могут быть высказаны лишь отдельные предположения. Более полное понимание может быть достигнуто только в результате дальнейших экспериментов.

ЛИТЕРАТУРА

Гурылева, Пробл. эндокрин., IV, 6, 1939.—Изаксон, Акушерство и гинекол., 10, 1938.—Blösch u. Bergel, цит. по Ber. ges. Phys., 88, 623, 1935.—Czarzka, Klin. Wschr., 6, 599, 1927.—Collazo et Marti, Ann. de Méd., 38, 383, 1935.—Dickens, Dodds a. Wright, Biochem. Journ., 19, 853, 1925.—Evans a. Cole, Memoirs Univ. of California, 9, No. 2, 1931.—Evans a. Swezy, ibid., 9, No. 3, 1931.—Engelhart u. Rimpl, Klin. Wschr., Nr. 3, 101, 1934; Nr. 20, 735, 1934.—Frey, Klin. Wschr., 3, 1319, 1924.—Houssay, Amer. Journ. Med. sci., 193, 581, 1937.—Heilig, Klin. Wschr., 3, 576, 1924.—Kahler, Wien. klin. Wschr., 27—417, 1914.—Lucke, Erg. inner. Med., 46, 94, 1934.—Marshall a. Jolly, Philosoph. trans. Roy. soc. of London, Ser. B., 198, 99, 1905.—Noorden u. Isak, Die Zuckerkrankheit und ihre Behandlung, Berlin, 1917.—Paperkorn, Münch. med. Wschr., 79, 1748, 1932.—Rathery, Kourilsky et Gilbert, C. r. Soc. biol., 99, 529 et 679, 1928.—Riddle u. Rheinart, Amer. Journ. Physiol., 76, 660, 1926.—Rosenbloom, Journ. Amer. med. assoc., 76, 1742, 1921.—Young, Journ. Physiol., 90, 20, P., 1937.—Zondek, Гормоны яичника, и передней доли гипофиза, Москва, Сельхозгиз (русск. пер.), 1938.—Zuntz, Обмен веществ у женщин (русск. пер.), Ленинград.

DIE REGULATION DES BLUTZUCKERSPIEGELS IN ABHÄNGIGKEIT VOM SEXUALZYKLUS

MITTEILUNG 1. ALIMENTÄRE HYPERGLYKÄMIE WÄHREND VERSCHIEDENER STADIEN DES OVARIALZYKLUS BEIM HUND

L. G. Leibsohn und R. S. Leibsohn

Aus der Abteil. f. Evolutions-Physiologie der Biologischen I. P. Pawlow-Station (Dir.: Akademiermittglied L. A. Orbeli) und dem Physiologischen Laboratorium (Vorst.: L. G. Leibsohn) d. Instituts f. Gesundheitsschutz im Kindes- und Adolescenten-Alter, Leningrad

Bei der Untersuchung des Einflusses verschiedener Faktoren auf den Ablauf der alimentären Hyperglykämie beim Hund stießen wir auf periodische Schwankungen der Reaktion des Organismus auf die Einführung von Zucker. Aufmerksame Nachprüfung des Materials zeigte, dass diese periodischen Schwankungen mit dem Phänomen der Brunst in Zusammenhang stehen. In der Literatur liegen zahlreiche Angaben vor über

den Zusammenhang verschiedener Prozesse im Organismus, unter anderem auch des Kohlenhydratstoffwechsels, mit dem weiblichen Sexualzyklus. Diese Angaben beziehen sich hauptsächlich auf den Menschen und können daher nicht als Grundlage für die physiologische Analyse verwertet werden. Dies veranlasste uns, unsere Beobachtung über den Einfluss des Ovarialzyklus auf den Ablauf der alimentären Hyperglykämie beim Hund zu überprüfen, um ferner zu der erforderlichen physiologischen Analyse vorzuschreiten. Die Versuche wurden an zwei Hunden ausgeführt. Die alimentäre Hyperglykämie wurde durch Verfütterung von Rohrzucker erzeugt, sie wurde in der Regel alle 3—4 Tage über eine Periode von mehreren Monaten (10 bei der einen Hündin und 5 bei der anderen) bestimmt.

Im Laufe des Sexualzyklus erleidet die alimentäre Hyperglykämie gesetzmässige Änderungen. Nach dem Charakter der Kurven kann man den ganzen Sexualzyklus in vier Stadien einteilen: Das Stadium der ansteigenden Kurven (stimmt etwa mit der zweiten Hälfte des Anöstrus überein), das Stadium des Absinkens der Kurven (beginnt unmittelbar vor, oder sogleich nach Eintritt der proöstralen Blutung), dasjenige der niedrigen Kurven (etwa die erste Hälfte des Metaöstrus), und schliesslich, das Stadium der mittleren Kurven (Rest des Zyklus). Es sei bemerkt, dass der normale Blutzuckerspiegel im Laufe des Zyklus keine merklichen Änderungen erleidet.

ДЫХАНИЕ ЭРИТРОЦИТОВ В ЭМБРИОНАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

Рахиль Лейбсон

Из физиологической лаборатории
(зав.—проф. А. Г. Гинединский) Ле-
нинградского педиатрического меди-
цинского института

Поступила в редакцию 22.IV.1939 г.

Проблема дифференцирования тканей в процессе эмбриогенеза подвергалась изучению преимущественно с морфологической точки зрения. Хотя в современной литературе и существует ряд данных, свидетельствующих об изменениях функциональных свойств тканей в процессе развития, однако физиология эмбриональных тканей и в настоящее время все еще основывается на недостаточно систематически исследованном материале.

Задачей настоящего исследования является физиологическая характеристика различных стадий развития такой высоко специализированной клетки, как эритроцит высших животных.

Одним из наиболее изученных показателей активности клетки является интенсивность происходящих в ней энергетических процессов. Известно, что эритроциты нормальных взрослых млекопитающих не потребляют кислорода или потребляют лишь ничтожные количества его, оставаясь функционально полноценными при продолжительном пребывании в среде, полностью лишенной кислорода. Тем не менее эритроцит млекопитающих, несомненно, представляет собой живую клетку, сильно специализированную и в результате специализации в значительной степени утратившую свою клеточную активность. К такому состоянию эритроцит приходит лишь в конце длинного ряда превращений, начинающихся от недифференцированной мезенхимной клетки, являющейся общим родоначальником для целого ряда тканей, в том числе и весьма активной мышечной ткани.

Изменения, претерпеваемые эритроцитом в процессе его развития, делают его весьма интересным объектом для изучения функционального дифференцирования тканей. Это изучение облегчается тем, что эритроцит является изолированной клеткой, свободно взвешенной в жидкости и поэтому всегда находящейся в благоприятных условиях для обмена с внешней средой. Благодаря этому, а также благодаря наличию собственного запаса кислорода в гемоглобине эритроциты хорошо выживают *in vitro*, не требуя для этого никаких особых мер предосторожности.

Большим преимуществом является также легкость добывания материала для исследования.

Все эти соображения и побудили нас приступить к исследованию изменения функциональных свойств эритроцита в процессе эмбриогенеза животного. В качестве показателя клеточной активности мы избрали интенсивность окислительного процесса у эритроцитов, взятых в различные стадии развития эмбриона. При этом мы имели в виду, что дифференцирование эритроцита, связанное с потерей его клеточной активности, может найти свое адекватное выражение в изменениях, которые претерпевает его способность к дыханию.

В литературе мы не нашли никаких экспериментальных данных, характеризующих дыхание эритроцитов эмбрионального организма. Все имеющиеся данные о газообмене эритроцитов касаются эритроцитов взрослых животных. Так, работами Warburg и Morawitz с сотрудниками было установлено, что как ядерные эритроциты птиц, так и безъядерные эритроциты млекопитающих обладают способностью потреблять кислород [Warburg (a)]. Безъядерные эритроциты нормальных взрослых млекопитающих потребляют значительно меньше кислорода, чем ядерные эритроциты нормальных взрослых птиц [Warburg (a), Wright (a)].

и б), Tipton и др.]; при увеличении количества молодых эритроцитов в крови, которое наблюдается при различных формах анемии, потребление кислорода кровью сильно возрастает [Morawitz и Pratt, Morawitz (а и б), Morawitz и Itami, Harrop, Roessingh, Denecke и др.]. Последнее отмечено не только для безъядерных, но и для ядерных эритроцитов (Onaka, Masing, Wright, Tipton).

Методика

Материалом для настоящего исследования служила кровь кроликов, морских свинок и кур, находящихся на различных стадиях эмбрионального и раннего постнатального развития. Для получения сравнительных данных была также подвергнута исследованию кровь взрослых животных тех же видов.

У эмбрионов кролика и морской свинки, находящихся на ранних стадиях развития, кровь добывалась из пуповины. Для этого эмбрион вместе с плацентой вынимался из матки, затем пуповина перерезалась острыми ножницами и кровь свободно стекала из отрезка пуповины, оставленного в соединении с телом эмбриона. Таким способом у наименьшего по размерам из обследованных нами объектов, у 20-дневного эмбриона кролика, можно было получить по 1—2 капли крови. Нужное для анализа количество материала получалось путем смешения крови от 8—10 эмбрионов, содержащихся в одной матке.

У плодов кролика, начиная с 26-дневного возраста, и у новорожденных животных представлялось наиболее удобным добывание крови из родничка. Для этой цели эмбрион подвешивался вниз головой, родничок вскрывался ножницами и кровь свободно стекала в подставленный стаканчик.

Для предохранения от свертывания кровь дефибрировалась. Этот способ, применяемый большинством исследователей [Warburg (а), Wright (а и б), Tipton и др.], удобен тем, что при этом кровь одновременно освобождается от лейкоцитов, которые могли бы затемнить картину дыхания эритроцитов.

Дыхание эритроцитов кролика и морской свинки определялось в сыворотке. Для получения крови куриных зародышей мы поступали следующим образом. Яйцо осторожно вскрывалось и очищалось от скорлупы на том конце, где находится зародыш. Один из крупных сосудов, расположенный около края отверстия, осторожно прорывался пинцетом и яйцо наклонялось таким образом, чтобы кровь вместе с жидкостью каплями стекала по наружной стенке скорлупы в подставленный стаканчик. Описанная операция не представляет никаких трудностей при добывании крови у зародышей 15 дней и старше. В применении к более молодым эмбрионам она несколько труднее и требует большой осторожности, так как желточная оболочка легко прорывается и жидкий желток легко может попасть в стекающую кровь, а даже небольшая примесь желтка может оказать сильное влияние на дыхание эритроцитов. Нам удавалось получать кровь, совершенно свободную от желтка, у 8- и даже 7-дневных зародышей. У более молодых зародышей взять чистую кровь нам не удалось.

Полученная описанным способом взвесь эритроцитов центрифугировалась и эритроциты два раза промывались раствором Рингера, в котором и определялось их дыхание.

У взрослых кур кровь бралась из v. brachialis и собиралась в пробирку; после свертывания сгусток разбивался стеклянной палочкой. Затем кровь разбавлялась жидкостью Рингера, фильтровалась через марлю и центрифугировалась. Жидкость отсасывалась и эритроциты еще два раза отмывались жидкостью Рингера.

Свертывание крови и последующее разбивание сгустка применены с целью удаления из крови лейкоцитов. Птичья кровь очень богата последними и простое дефибрирование оказывается недостаточным для ее освобождения от этих элементов. Warburg (а) показал, что в гусиной крови, обработанной описанным способом, остается лишь очень незначительное количество лейкоцитов, которые уже не могут иметь влияния на общую величину потребления кислорода кровью.

Потребление кислорода эритроцитами определялось по методу Warburg, причем мы воспользовались для наших опытов модификацией прибора, описанной в 1923 г. [Warburg (б)]. Емкость приборов колебалась от 3,5 до 8 см³.

Для сохранения постоянной температуры (38°) в течение опыта приборы помещались в водяной термостат с электрическим нагреванием. Колебания температуры не превышали +0,02°.

Поправка на температурные колебания, а также на колебания атмосферного давления определялась при помощи дополнительного прибора, служившего в качестве термобарометра.

Дыхание крови определялось прямым способом, описанным Warburg (б). В большое отделение respirometra помещалась исследуемая кровь (0,25—0,5 см³), в малое отделение помещалось соответственно 0,1—0,2 см³ 5% раствора КОН. Потребление кислорода измерялось в течение 1—2 часов (в зависимости от интенсивности дыхания различных эритроцитов), причем отсчеты производились каждые 15 минут. Для получения сравнимых данных величина дыхания, получен-

ная в каждом опыте, пересчитывалась на кубические миллиметры кислорода, потребляемого 1 см³ эритроцитов в 1 час.

Определение относительного объема эритроцитов производилось при помощи гематокрита.

Для определения количества молодых форм эритроцитов применялись метод суправительной окраски мазков посредством Brilliantcresylblau и последующий подсчет ретикулоцитов в этих мазках.

Содержание ретикулоцитов в крови выражалось в процентах к общему числу эритроцитов.

В тех случаях, где можно было ожидать наличия ядерных форм, мазок подвергался дополнительной окраске по Gimsa.

Дыхание эритроцитов кролика

Дыхание эритроцитов взрослых кроликов было неоднократно исследовано различными авторами, тем не менее нам необходимо было повторить эту работу, чтобы иметь в своем распоряжении вполне надежный материал для сравнения, полученный в совершенно одинаковых условиях опыта.

Таблица 1. Дыхание эритроцитов взрослых кроликов

№ опыта	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Среднее
мм ³ O ₂ , потребляемого 1 см ³ эритроцитов в 1 час . .	48,1	32,0	54,0	20,4	31,5	21,0	27,1	13,5	43,1	42,0	33,3
% ретикулоцитов	—	—	4,8	3,8	4,7	4,2	3,8	2,6	5,1	5,4	4,4

Всего было сделано 10 определений (табл. 1). Как видно из табл. 1, 1 см³ эритроцитов в среднем потребляет 33,3 мм³ O₂ в 1 час. Дыхание

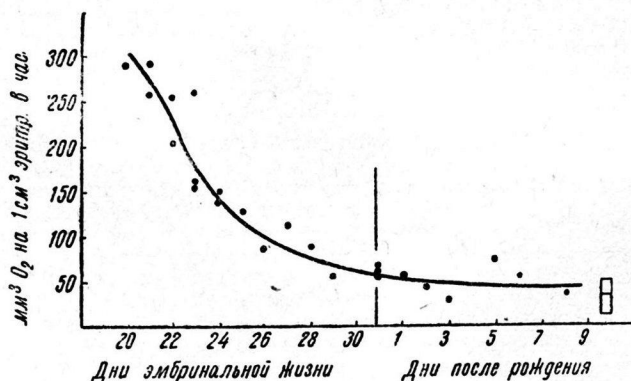


Рис. 1. Дыхание эритроцитов кролика в эмбриональном и постнатальном периоде. Каждая точка обозначает результат отдельного опыта. Прямоугольником и пересекающей его линией обозначены пределы колебаний и средняя величина дыхания эритроцитов нормальных взрослых кроликов

эритроцитов различных особей колеблется в довольно широких пределах — от 13,5 до 54 мм³ O₂. Эти колебания могут быть объяснены различным содержанием ретикулоцитов в крови отдельных кроликов, так как известно, что между интенсивностью дыхания и числом ретикулоцитов существует совершенно определенная зависимость.

С кровью эмбрионов кролика было поставлено 15 опытов, из которых 10 приходится на период от 20 до 24 дней и 5 — на период от 25 до

29 дней. Кроме того, было поставлено еще 9 опытов с кровью новорожденных кроликов в возрасте от 1 часа до 8 дней со дня рождения.

На основании полученных данных (рис. 1) мы приходим к следующим выводам.

Дыхание эмбриональных эритроцитов значительно больше, чем дыхание эритроцитов взрослого кролика. На 20—21-й день внутриутробной жизни кролика эритроциты потребляют 250—290 мм³ кислорода, что превышает среднее дыхание эритроцитов нормального взрослого кролика в 8—9 раз.

По мере развития плода дыхание эритроцитов уменьшается сначала быстро, затем более медленно, приближаясь к концу эмбрионального периода к верхней границе индивидуальных колебаний, установленных для эритроцитов взрослого кролика. В течение первой недели после рождения дыхание эритроцитов остается на том же уровне, превышая среднее дыхание эритроцитов взрослого кролика примерно на 50%. Дальнейшее понижение дыхания и время достижения нормы взрослых животных не прослежены.

Дыхание эритроцитов морской свинки

Для определения нормального дыхания эритроцитов взрослой морской свинки было поставлено 22 опыта. Необходимость такого большого числа опытов была вызвана крайней неустойчивостью дыхания эритроцитов морской свинки. Как видно из табл. 2, оно колеблется в очень широких пределах — от 5,5 до 73 мм³ O₂ на 1 см³ эритроцитов в 1 час.

Таблица 2. Дыхание эритроцитов взрослых морских свинок

№ опыта	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
мм ³ O ₂ , потребляемого 1 см ³ эритроцитов в 1 час.	26,5	40	39	27	32	28	14	18	19	63	11,5	13	66	73	36	25	5,5	32	38	16	21,5	6,5
Среднее	29																					

Однако если мы построим вариационную кривую индивидуальных колебаний (рис. 2), то увидим, что только в 3 случаях дыхание было выше 40 мм³ и в 2 случаях ниже 10 мм³ на 1 см³ эритроцитов в 1 час, в 17 же из 22 случаев дыхание вариировало от 10 до 40 мм³, т. е. зона колебаний была не шире, чем у кролика.

Средняя арифметическая из всех 22 случаев равна 29, т. е. близка к средней цифре, полученной нами для кролика.

Момент оплодотворения яйцеклетки, а следовательно, и возраст эмбрионов у морской свинки определить довольно трудно, поэтому мы определяли возраст эмбрионов косвенным путем, измеряя их рост и вес. Руководствуясь таблицей Draper, приведенной в книге Needham, мы на основании этих измерений определяли возраст плода.

С кровью эмбрионов морской свинки было поставлено всего 20 опытов, из которых большая часть приходится на период от 40 дней до конца внутриутробной жизни. Ранний период эмбриональной жизни охвачен слабо вследствие трудности добывания крови у молодых эмбрионов.

Кроме опытов с эмбриональной кровью, было поставлено еще 10

опытов с кровью молодых животных в возрасте от 1 до 10 дней после рождения (рис. 3).

Несмотря на малое количество и крайнюю разбросанность точек в левой части рис. 3, они дают нам, однако, возможность ориентировочно наметить ход кривой и в этой части. Цифры же, полученные для плодов старше 45 дней, близко совпадают друг с другом и потому проведение этой части кривой не вызывает затруднений.

Анализируя полученную кривую, мы приходим к следующим выводам.

В основном кривая выражает ту же закономерность, которая была отмечена для эритроцитов кролика. На определенной стадии развития плода дыхание эритроцитов резко падает, причем это падение протекает по логарифмической кривой.

В начале обследованного периода, т. е. на 30—32-й день эмбриональной жизни, дыхание эритроцитов морской свинки составляет в среднем

175 мм³, т. е. повышено по сравнению с дыханием эритроцитов взрослого животного приблизительно в 6 раз. В последующий период интенсивность дыхания эритроцитов сильно уменьшается и еще до рождения

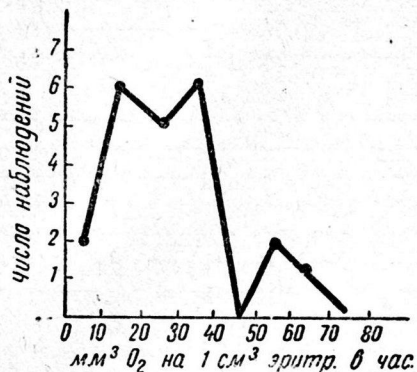


Рис. 2. Вариационная кривая индивидуальных колебаний дыхания эритроцитов взрослых морских свинок

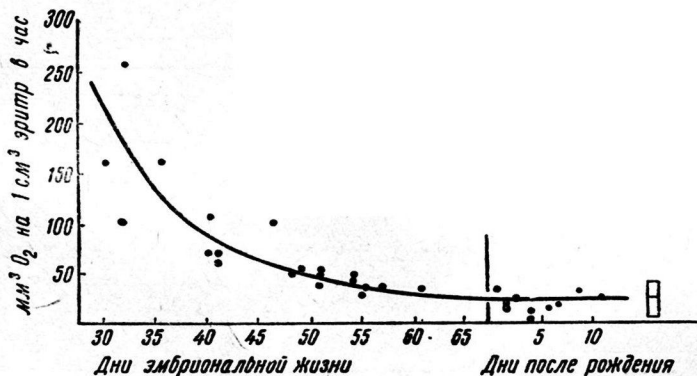


Рис. 3. Дыхание эритроцитов морской свинки в эмбриональном и постнатальном периодах. Обозначения см. на рис. 1

животного достигает уровня, свойственного эритроцитам взрослой морской свинки.

В опытах, поставленных на морских свинках в течение первой декады после их рождения, наблюдалось весьма низкое дыхание эритроцитов; в большинстве случаев оно было даже немного ниже средней нормы, установленной для взрослой морской свинки. Однако, принимая во внимание крайнюю неустойчивость дыхания эритроцитов морской свинки, мы склонны отнести полученные низкие цифры за счет случайных причин.

Дыхание куриных эритроцитов

Дыхание куриных эритроцитов определялось в растворе Рингера. Для определения нормы потребления кислорода эритроцитами взрос-

лых кур была использована кровь 2 кур и 3 петухов из породы «белых леггорн» в возрасте от 3½ до 4 месяцев (табл. 3).

Таблица 3. Дыхание эритроцитов взрослых кур

№ опыта	1	2	3	4	5	Среднее
мм³ O₂, потребляемого 1 см³ эритроцитов в 1 час	60	71	66	58	76	66

В среднем 1 см³ куриных эритроцитов потребляет 66 мм³ кислорода в 1 час.

Зона индивидуальных колебаний для куриных эритроцитов значительно уже, чем для эритроцитов кролика и морской свинки. Данные отдельных опытов отличаются друг от друга не больше чем на 30%.

Для определения дыхания эмбриональных эритроцитов была исследована кровь куриных зародышей (той же породы) в возрасте от 7 до 21 дня, т. е. до момента вылупления цыпленка из яйца.

Всего с эмбриональными куриными эритроцитами было поставлено 68 опытов, для которых было использовано 124 яйца (рис. 4). На этом

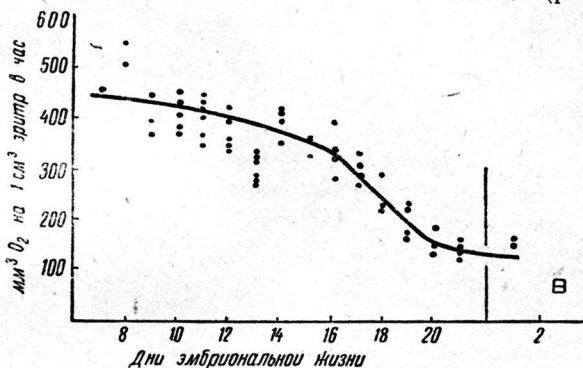


Рис. 4. Дыхание куриных эритроцитов в эмбриональном периоде. Обозначения см. на рис. 1

же рисунке изображены результаты 2 опытов, поставленных с кровью цыплят через день после их вылупления из яйца.

Общая картина изменения дыхания куриных эритроцитов во время эмбрионального развития выражает ту же закономерность, что и для эритроцитов кролика и морской свинки. На ранних стадиях зародышевой жизни дыхание эритроцитов колеблется от 350 до 450 мм³, т. е. в 5—7 раз превышает дыхание эритроцитов взрослых кур, затем, начиная с 15-го дня, потребление кислорода резко снижается.

К моменту вылупления цыпленка из яйца дыхание эритроцитов, однако, еще не достигает взрослой нормы, а остается приблизительно в 2 раза выше последней, сохраняя этот уровень и в первые дни после вылупления цыпленка.

Сравнительная оценка результатов, полученных на различных животных

Наши опыты показали, что как безъядерные эритроциты кролика и морской свинки, так и ядерные эритроциты кур на ранних стадиях он-

тогенеза характеризуются значительной интенсивностью дыхания, которая по мере развития эмбриона уменьшается, постепенно приближаясь к величине дыхания, свойственной эритроцитам взрослого животного.

Для удобства сравнения кривые, характеризующие изменение дыхания эритроцитов в процессе эмбриогенеза у различных животных, нанесены на график рис. 5. Масштабы времени были подобраны, исходя из кривой изменения веса эмбрионов, с таким расчетом, чтобы различия в скорости развития были по возможности элиминированы.

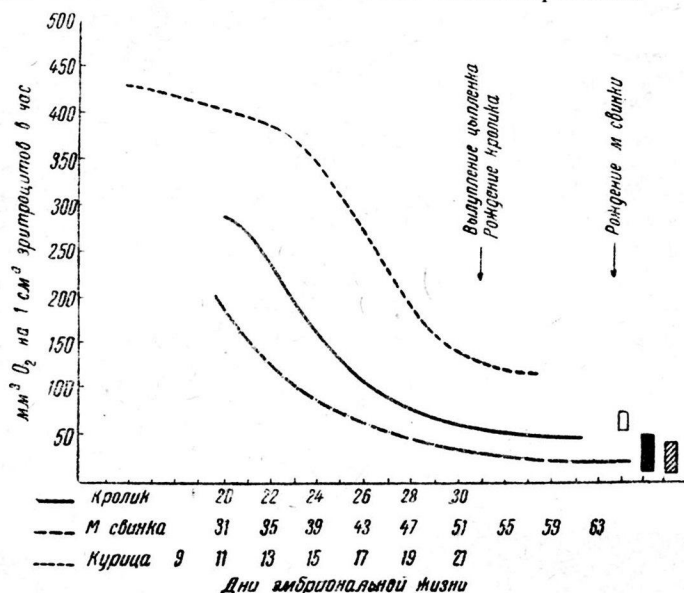


Рис. 5. Сравнительный график изменения дыхания эритроцитов различных животных. Прямоугольниками обозначены пределы колебаний для взрослых животных: — курица; — кролик; — морская свинка

Как видно из рис. 5, эти кривые протекают для кролика и морской свинки почти параллельно друг другу. Параллелизм между ними особенно отчетливо выражен в правой части графика, соответствующей сравнительно поздней стадии развития плода.

Интересно, что, тогда как у кролика дыхание эритроцитов падает до верхней границы нормы, установленной для эритроцитов взрослых животных только после рождения, у морской свинки оно достигает этого уровня еще за 2 недели до рождения. Это обстоятельство, несомненно, стоит в связи с высокой степенью зрелости, которой достигает морская свинка к моменту своего рождения. Можно считать, что морская свинка уже за 2 недели до своего рождения соответствует по развитию новорожденному кролику.

Кривая изменения дыхания эритроцитов куриного зародыша в общем выражает ту же закономерность, что и две другие кривые, и в значительной своей части протекает сходно с этими кривыми, но по своему абсолютному уровню она значительно выше их, что соответствует более интенсивному дыханию ядерных эритроцитов взрослых птиц по сравнению с безъядерными эритроцитами взрослых млекопитающих. Кроме того, она отличается от остальных кривых и по форме. На ранних стадиях развития куриного зародыша дыхание эритроцитов понижается очень медленно и лишь при дальнейшем развитии эмбриона наблюдается резкое уменьшение дыхания. Таким образом, кривая в левой своей части образует характерный изгиб, которого мы не наблюдали на других

кривых; лишь некоторый намек на подобный изгиб имеется в кривой, выражающей изменения дыхания эритроцитов у кроликов.

Повидимому, это объясняется тем, что дыхание куриных эритроцитов было исследовано нами, начиная с значительно более раннего периода эмбриональной жизни, чем дыхание эритроцитов кролика и морской свинки. Надо думать, что у каждого животного существует период, когда дыхание эритроцитов держится на некотором максимальном уровне и лишь после этого периода начинает понижаться.

Зависимость между дыханием и морфологической картиной крови

Возникает вопрос, не связано ли происходящее в процессе онтогенеза понижение интенсивности дыхания крови с изменением ее морфологического состава.

Еще в 1908 г. Morawitz и Pratt обнаружили, что кровь, взятая у кроликов через некоторое время после кровопускания, потребляет во много раз больше кислорода, чем кровь нормального животного. Повышенное дыхание крови было обнаружено также при различных видах анемии у человека (Morawitz и Itami). Это увеличение дыхания крови авторы связали с поступлением в кровь значительного количества молодых форм эритроцитов, которое происходит при усиленной регенерации крови. Появления в крови ядерных форм при этом не наблюдалось, поэтому повышение дыхания крови было отнесено за счет других незрелых форм эритроцитов, находящихся на более поздних стадиях развития.

Эти наблюдения были в дальнейшем подтверждены целым рядом исследований (Harrop, Roessingh, Denescke, Heimann и Eimer, Wright, Ramsey и Warren, Tipton), которые показали, что между интенсивностью дыхания крови и наличием в ней молодых форм эритроцитов действительно существует тесная зависимость.

Мнения различных авторов расходятся лишь по вопросу о том, с какими морфологическими формами связано повышение дыхания: с полихроматофильными эритроцитами (Denescke и его сотрудники) или ретикулоцитами (витальнозернистые формы) (Harrop, Roessingh, Wright, Ramsey и Warren, Tipton). Однако весьма вероятно, что полихроматизия и витальная зернистость являются лишь различными выражениями одной и той же морфологической структуры (Seyfarth, Schilling), и, таким образом, противоречия между вышеуказанными авторами являются лишь кажущимися. Подсчет ретикулоцитов является более легким и менее субъективным, чем подсчет полихромных эритроцитов, и этим объясняется то, что большинство авторов пользуется для определения количества молодых форм именно этим методом. В последнее время вопрос о зависимости между дыханием и количеством ретикулоцитов снова подвергся тщательному исследованию со стороны ряда авторов.

Wright, исследуя дыхание эритроцитов при экспериментальной анемии у кроликов, нашел, что потребление кислорода кровью возрастает прямо пропорционально количеству содержащихся в этой крови ретикулоцитов. На основании этих данных Wright пришел к выводу, что все дыхание крови происходит за счет ретикулоцитов и что зрелые формы эритроцитов совсем не обладают способностью к дыханию. Противоположной точки зрения придерживаются Ramsey и Warren, считающие, что хотя ретикулоциты и потребляют значительно больше кислорода, чем незернистые эритроциты, однако последние все же дышат настолько интенсивно, что обуславливают значительную часть дыхания нормальной крови взрослого кролика.

Таким образом, вопрос о собственном дыхании зрелых эритроцитов взрослых млекопитающих еще не может считаться окончательно решенным. Однако можно с уверенностью сказать, что если это дыхание и существует, то оно ничтожно мало по сравнению с дыханием ретикулоцитов.

При рассмотрении зависимости между величиной окислительного процесса и морфологическим составом крови в эмбриональном периоде нас интересовало выяснение следующих вопросов:

- 1) в какой степени интенсивное дыхание эмбриональной крови может быть обусловлено наличием в ней ядерных форм;
- 2) протекает ли изменение дыхания эритроцитов параллельно с изменением числа ретикулоцитов;
- 3) дышат ли незернистые формы эмбриональных эритроцитов;

4) потребляют ли эмбриональные ретикулоциты столько же кислорода, сколько ретикулоциты взрослых животных.

а) Значение ядерных форм. У взрослых млекопитающих дыхание крови при анемии увеличивается в связи с поступлением в кровь значительного количества молодых, но уже безъядерных эритроцитов, отличающихся от зрелых форм наличием витальной зернистости. Ядерные же формы при этом в крови не появляются или же если и появляются, то в таких ничтожных количествах, что не могут служить причиной повышения дыхания крови. Произведенный нами подсчет ядерных форм в крови эмбрионов кролика и морской свинки показал, что и в крови эмбрионов на исследованных нами стадиях развития количество ядерных форм настолько мало, что не может иметь существенного влияния на общее количество потребляемого кровью кислорода.

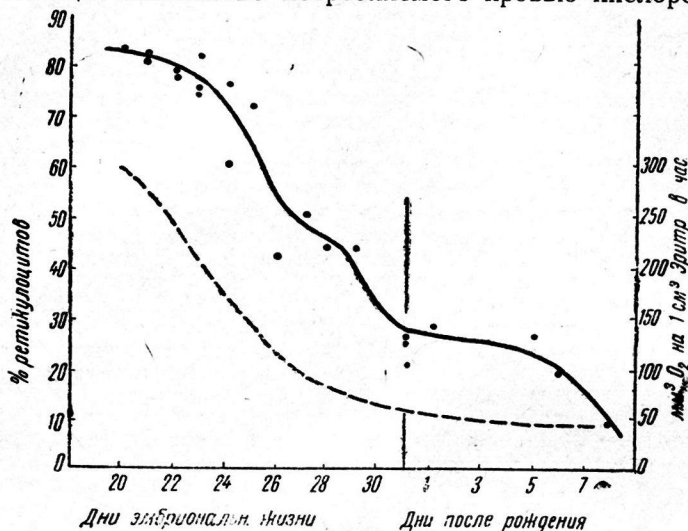


Рис. 6. Содержание ретикулоцитов в крови кролика в эмбриональном и постнатальном периодах. Каждая точка представляет собой цифру, полученную в отдельном опыте. Прерывистая линия обозначает дыхание эритроцитов

б) Зависимость между дыханием и числом ретикулоцитов. По наблюдения Seyfarth, кровь новорожденного кролика содержит от 30 до 80% ретикулоцитов, в крови же эмбрионов часто все эритроциты содержат витальную зернистость. У новорожденной морской свинки Seyfarth находил от 10 до 30% ретикулоцитов. Эти цифры, особенно для новорожденных кроликов, не совсем совпадают с нашими данными, которые несколько ниже приводимых Seyfarth. Тем не менее и по нашим наблюдениям количество молодых, витально окрашиваемых эритроцитов в эмбриональном периоде очень велико.

У кролика (рис. 6) в течение первых дней изучаемого периода (20—22 дня) витальнозернистые формы составляют около 80% всех эритроцитов. В последующие дни количество ретикулоцитов уменьшается, сначала постепенно, затем более круто, доходя на 26-й день до уровня 45—50%. На этом уровне число ретикулоцитов остается до 29-го дня. К моменту рождения число ретикулоцитов опять резко падает, доходя до уровня 20—30%.

Это количество остается почти неизменным в течение 6 дней, на 8-й же день опять наблюдается резкое уменьшение до 9%. В это время число ретикулоцитов все еще в два раза превышает среднюю норму для взрослых кроликов (табл. 1).

Таким образом, число ретикулоцитов по мере развития кролика сильно уменьшается, но не постепенно, как это наблюдается для дыхания, а скачками. Подобная же ступенчатость наблюдается также и в изменениях числа ретикулоцитов у эмбриона морской свинки (рис. 7). У 30-дневного эмбриона морской свинки, т. е. у самого молодого из обследованных нами, кровь по своему морфологическому составу напоминает кровь 21—22-дневного эмбриона кролика. Так же, как и у последних, она содержала около 80% ретикулоцитов. Однако уже на 32-й день процент ретикулоцитов упал до 45—47. Таким образом, период, характеризующийся высоким процентом ретикулоцитов, повидимому, захвачен нами лишь в самом конце. Начиная от 32 дней и до

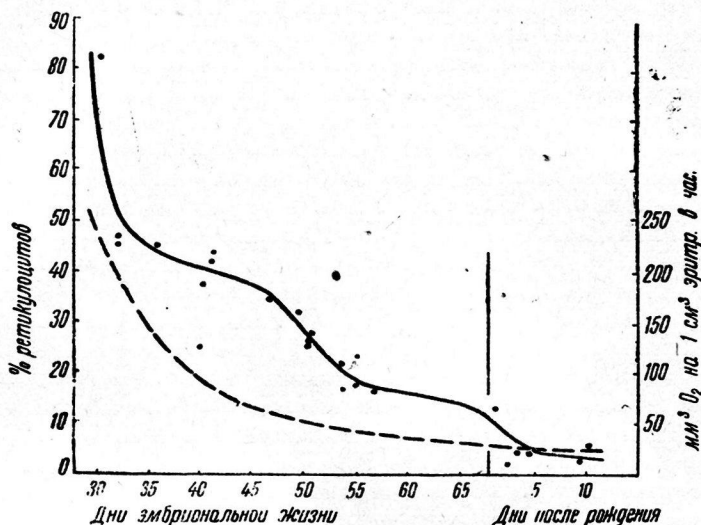


Рис. 7. Содержание ретикулоцитов в крови морской свинки в эмбриональном и постнатальном периодах. Обозначения см. на рис. 6

рождения морской свинки, число ретикулоцитов падает до 15%, причем падение это неравномерно. На 2-й день после рождения процент ретикулоцитов резко снижается и в последующие дни колеблется от 0 до 6, т. е. в тех же пределах, что и у взрослой морской свинки. Таким образом, как для кролика, так и для морской свинки не наблюдается параллелизма между изменением морфологического состава крови и ее дыханием. У обоих животных периоды относительной стабилизации числа ретикулоцитов в крови на ранних стадиях онтогенеза в то же время характеризуются наиболее резким падением дыхания. Кривые изменения числа ретикулоцитов имеют в обоих случаях ступенчатый вид, тогда как потребление кислорода эритроцитами падает постепенно по правильной логарифмической кривой. Мы приходим, таким образом, к выводу, что в эмбриональном периоде количество ретикулоцитов не является тем основным моментом, который определяет интенсивность дыхания крови, как это наблюдается у взрослых анемичных животных. При этом ретикулоциты эмбриона по интенсивности дыхания неравноценны ретикулоцитам взрослого животного. Допустив, что незернистые эритроциты, так же как и у взрослых животных, не обладают способностью потреблять кислород, мы должны считать, что все дыхание эмбриональной крови представляет собой дыхание ретикулоцитов. Исходя из этого допущения, мы можем из полученных экспериментальных данных рассчитать дыхание 1 см³ ретикулоцитов.

Такой расчет показывает, что дыхание ретикулоцитов значительно

ниже у эмбриона, чем у взрослого животного. У эмбрионов кролика дыхание 1 см³ ретикулоцитов колеблется от 130 до 370 мм³, тогда как такой же объем ретикулоцитов взрослого кролика потребляет в среднем 700 мм³ O₂ в 1 час. Однако эти цифры справедливы лишь в том случае, если незернистые эмбриональные эритроциты не имеют собственного дыхания. Если же эритроциты, не обладающие витальной зернистостью, тоже потребляют некоторое количество кислорода, то дыхание ретикулоцитов должно быть еще ниже.

На основании анализа кривых, изображенных на рис. 6 и 7, мы приходим к заключению, что последнее предположение является более вероятным и что в эмбриональном периоде в дыхании крови принимают участие как зернистые, так и незернистые формы эритроцитов.

Как у кроликов, так и у морской свинки существуют периоды, когда число ретикулоцитов в крови почти не меняется, в то время как дыхание крови резко падает. Если мы допустим, что дышат одни ретикулоциты, то мы должны также допустить, что в течение указанных периодов дыхание каждого ретикулоцита резко понижается. Вместе с тем существуют периоды, в течение которых резко уменьшается число ретикулоцитов, тогда как дыхание крови остается почти на постоянном уровне. Принимая, что дыхание крови обусловлено только ретикулоцитами, мы должны были бы допустить, что в эти периоды дыхание ретикулоцитов увеличивается. Кажется мало вероятным, чтобы существовала такая зависимость между числом содержащихся в крови ретикулоцитов и их дыханием, которая обусловила бы плавный ход уменьшения окислительной способности крови в целом. Гораздо более вероятно допущение, что дыхание эмбриональной крови обусловлено как зернистыми, так и незернистыми формами эритроцитов и что интенсивность этого дыхания в значительной степени определяется какими-то общими влияниями, связанными с развитием растущего организма.

Выводы

1. На ранних стадиях развития эмбриона эритроциты (ядерные и безъядерные) обнаруживают значительную интенсивность окислительного процесса, убывающую по правильной кривой по мере созревания эмбриона.

2. Высокое дыхание эмбриональной крови не связано с наличием в ней ядерных форм.

3. Повидимому, интенсивность дыхания крови в эмбриональном периоде не определяется также числом содержащихся в ней ретикулоцитов, так как нет количественной зависимости между понижением дыхания и уменьшением числа ретикулоцитов.

4. По своим окислительным свойствам ретикулоциты эмбрионального организма неравноценны ретикулоцитам взрослого животного: эмбриональные ретикулоциты потребляют значительно меньше кислорода, чем ретикулоциты, содержащиеся в крови взрослого животного.

5. Тогда как зрелые эритроциты взрослого кролика либо совсем не потребляют кислорода, либо потребляют очень незначительные количества его, незернистые эритроциты, содержащиеся в эмбриональной крови, повидимому, дышат наравне с ретикулоцитами.

ЛИТЕРАТУРА

Denecke, Ztschr. ges. exp. Med., 36, 179, 1923.—Denecke, Heimann u. Eimer, Ztschr. ges. exp. Med., 47, 167, 1925.—Harrop, Arch. Int. Med., 23, 745, 1919.—Masing, Arch. exp. Path. u. Pharmak., 66, 71, 1911.—Morawitz, Arch. exp. Path. Pharmak., 60, 298, 1909; Handb. norm. u. path. Physiol., 6, 203, 1928.—Morawitz u. Pratt, Münch. med. Wschr., Nr. 35, 1908.—Morawitz u. Itami, Deutsch. Arch.

klin. Med., 191, 1910.—Needham, Chemical embryology, 1931.—Onaka, Ztschr. physiol. Chemie, 70, 433, 1911.—Ramsey a. Warren, Quart. Journ. exp. physiol., 22, No. 1, 49, 1932.—Roessingh, Deutsch. Arch. klin. Med., 138, 367, 1922.—Schilling, Handb. norm. u. path. Physiol., 6, 730, 1928.—Seyfarth, Folia haemat., 34, H. 1, 7, 1927.—Tepton, Journ. cell. a. comp. physiol., 3, 313, 1933.—Warburg, Ztschr. physiol. Chem., 59, 112, 1909; Biochem. Ztschr., 142, 317, 1923; Über den Stoffwechsel der Tumoren, Berlin, 1926.—Wright, Journ. gener. physiol., 14, 179 a. 201, 1930.

DIE ATMUNG DER ERYTHROZYTEN WÄHREND DER EMBRYONALEN PERIODE

Rachel Leibsohn

Aus dem Physiologischen Laboratorium (Vorst.:
Prof. A. G. Ginezinsky) des Instituts f. Kinder-
heilkunde, Leningrad

Vorstehende Untersuchung bezweckte die Klarstellung gewisser Züge der funktionellen Differenzierung, die die Erythrozyten—eine der hochspezialisierten Zellarten des erwachsenen Organismus—im Laufe der embryonalen Entwicklung durchmachen.

Die Verfasser ging von der Voraussetzung aus, dass die embryogenetische Differenzierung der Erythrozyten, die mit der Einbusse der Zellaktivität verbunden ist, sich in Änderungen des Oxydationsvermögens äussern könnte. Es wurde daher die Intensität der Atmung der Erythrozyten auf verschiedenen Stufen der embryonalen Entwicklung untersucht. Die Ätmung der Erythrozyten wurde nach der Warburg'schen Methode gemessen. Untersucht wurden die Erythrozyten von Kaninchen-, Meerschweinchen und Hühner-Embryonen verschiedener Entwicklungsstadien.

In allen Proben, in denen die Erythrozyten-Atmung bestimmt wurde, wurden Zählungen des prozentuellen Anteils vital-färbbarer Formen (Retikulozyten) ausgeführt.

Aus den Versuchsergebnissen können folgende Schlüsse gezogen werden:

1. Auf frühen Stufen der embryonalen Entwicklung weisen die Erythrozyten intensive Oxydationsvorgänge auf, die im Masse der Entwicklung des Fötus allmählich nach einer regelmässigen Kurve abnehmen.

2. Bei den verschiedenen untersuchten Tierarten weisen die Kurven, die den Verlauf der ontogenetischen Änderungen der Atmungsfähigkeit der Erythrozyten wiedergeben, eine bedeutende Ähnlichkeit auf. Zugleich lassen diese Kurven artbedingte Unterschiede erkennen, die mit den Besonderheiten der embryonalen Entwicklung zusammenhängen.

3. Aus dem Vergleich des morphologischen Blutbilds und des Intensität der Erythrozytenatmung auf verschiedenen Stufen der Embryogenese ergibt sich, dass die beobachteten Änderungen nicht mit dem individuellen Reifungszyklus der Erythrozyten allein zusammenhängen können, sondern vielmehr gewisse für alle Gewebe gemeinsame Differenzierungsvorgänge widerspiegeln, die mit dem Heranreifen des Organismus in Zusammenhang stehen.

О ВЛИЯНИИ ГОРМОНОВ КОРЫ И МОЗГОВОЙ ЧАСТИ НАДПОЧЕЧНИКОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ГЛЮТАТИОНА В ТКАНЯХ И КРОВИ

С. В. Ильин

Из лаборатории физиологической химии (зав.—проф. М. В. Веселкин) Государственного естественно-научного института им. П. Ф. Лесгафта, Ленинград

Поступила в редакцию 7.IV.1939 г.

По современным представлениям, глутатиону принадлежит, повидимому, существенная роль в процессах интермедиарного обмена.

Ряд исследований указывает на то, что глутатион может оказывать влияние на отдельные этапы углеводного обмена. Так, Bimpp и Appel (1) нашли, что сульфгидрильная форма глутатиона стимулирует гликолитическое образование молочной кислоты. Lohmann (2) показал, что прибавление глутатиона к инактивированному в отношении способности к образованию молочной кислоты экстрактам из мышц и дрожжей восстанавливает эту способность. Ряд авторов подтверждает участие глутатиона в процессе образования молочной кислоты [Bargenscheen и Beneschowsky (3), Lowett и Quastell (4), Platt и Schroeder (5)]. Bargenscheen считает, что глутатион восстанавливает пировиноградную кислоту в молочную.

Помимо процесса образования молочной кислоты, глутатион имеет, повидимому, отношение и к другому важнейшему этапу мышечного химизма. Сульфгидрильная форма его, по Waldschmidt-Leitz (6), тормозит скорость ферментативного распада фосфорных эстеров (гексозофосфатов и глицерофосфатов). Интересно, что в отравленной моноацетатом мышце, где, как известно, происходит усиленный гидролиз креатинфосфорной кислоты, весь глутатион (а также и цистин) оказывается окисленным (3). Хотя найденные в приводимых работах факты и нуждаются в дальнейшей разработке и уточнении, все же и теперь уже можно думать, что глутатион играет известную роль в энергетике мышечных сокращений. В связи с этим представляет большой интерес найденный Quensel и Wachholder (7) факт значительно большего содержания глутатиона в «тонических» мышцах, чем в «нетонических».

Pringsheim, Borchardt и Hupfer (8) показали, что цистин и дисульфидная группа глутатиона активируют ферментативный распад крахмала.

Большое значение придается глутатиону в белковом обмене, в частности, в регуляции протеолитических процессов в тканях. Waldschmidt-Leitz (9) показал, что цистин и глутатион активируют действие катепсина, а Grassmann (10) нашел то же в отношении растительной протеиназы — папаина. Далее, Grassmann и Waldschmidt-Leitz нашли, что оба активирующие тканевой распад белка начала — зоо- и фитокиназа — не отличаются друг от друга и идентичны с глутатионом. Так же, как и в отношении углеводного обмена, оказалось, что моноодуксусная кислота, окисляющая глутатион, угнетает действие тканевых протеиназ. Несмотря на то, что теория Grassmann и Waldschmidt-Leitz была подвергнута в последние годы критике [Maschmann и Gelmert (11), Bierich и Rosenboom (12) и др.], теорию эту нельзя признать опровергнутой [подробнее об этом см. у Гольдштейна (13)].

Большое число исследований посвящено также вопросу об участии глутатиона в окислительных процессах. В этом направлении данные различных авторов настолько противоречивы, что в настоящее время навряд ли возможно составить себе более или менее ясное представление по этому вопросу.

Приведенные литературные указания говорят о том, что глутатиону приписывают весьма разнообразную роль в тканевом метаболизме.

Нам казалось интересным изучить влияние эндокринной системы, регулирующей интермедиарный обмен, на глутатион тканей. В первую очередь было изучено влияние надпочечных желез.

В литературе данных о влиянии гормонов на содержание глутатиона в крови и тканях очень мало. Введение адреналина, а также кортина ведет к повышению содержания глутатиона в крови, в частности, сульфгидрильной формы его [Zunz (14), Zunz и Wesselowsky (15), Winter, Raiss и Waldecasas (16)]. Houssay и Mazzocco (17) изучали (пользуясь методикой Tunnicliff) содержание глутатиона в мышцах, печени и почках крыс с удаленными надпочечниками и нашли, что по сравнению с нормальными у эпинефрэктомированных крыс содержание глутатиона в мышцах повышено, тогда как содержание его в печени и почках колеблется в тех же пределах, как и у нормальных крыс.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Опыты по изучению содержания глутатиона в тканях у эпинефрэктомированных кошек

Экстирпация надпочечников производилась двумоментно внебрюшным способом. Между удалением правого и левого надпочечников проходило от 15 до 60 дней. После удаления второго надпочечника животные содержались в теплой комнате (при температуре 25—28°) и кормились молоком. Когда у животных развивались явления явной или резкой недостаточности, под эфирным наркозом у них с возможной быстротой брались кровь, печень, почки и мышцы (m. biceps femoris) и в них определялся глутатион: в крови по методу Woodward и Fry (18), в тканях по методу Quensel и Wachholder (19). Контрольные, неоперированные животные помещались в те же условия питания и температуры. Когда потеря веса тела контрольных кошек достигала приблизительно той же величины, что и у опытных животных, у них также под эфирным наркозом брались для анализа ткани и кровь.

Результаты опытов представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1. Содержание глутатиона в тканях и крови у контрольных кошек (H—S—окисленная форма; S—S—восстановленная форма; S—общее содержание)

№ опыта	Падение веса в %	Глутатион в мг%													
		Печень			почки			мышцы			кровь				
		H-S	S-S	S	H-S	S-S	S	H-S	S-S	S	H-S	S-S	S	число эритро- цитов (в ты- сячах)	коэффициент Gable
11	9,3	181	7	188	—	—	—	34,0	3,0	37,0	30,0	4,0	34,0	5 820	5,1
12	6,7	234	31	265	123	16	139	39,3	0	39,3	31,3	8,0	39,3	5 620	5,6
13	13,0	228	33	261	100	42	142	36,2	1,8	38,0	36,2	4,0	40,2	4 920	7,3
14	8,0	274	18	292	126	14	140	34,3	2,5	36,8	33,1	1,9	35,0	6 900	4,8
15	6,5	293	29	322	99	9	108	22,1	0	22,1	25,7	6,8	32,5	7 220	3,5
16	9,0	258	17	275	144	12	156	21,5	3,0	24,5	29,4	1,2	30,6	6 880	4,3
17	6 0	226	29	255	139	11	150	30,6	3,7	34,3	32,5	4,9	37,4	7 200	4,5
Сред- нее	8,3	242	23	265	122	17	139	31,1	2,0	33,1	31,1	4,4	35,5	6 360	5,0

Из результатов, представленных в табл. 1, видно, что содержание глутатиона в тканях и в крови разных контрольных животных испытывает довольно значительные колебания. Такого же типа колебания имеют место и у эпинефрэктомированных животных (табл. 2). В среднем все же в печени, в почках и в крови содержание глутатиона повышено по сравнению с контролем, однако настолько незначительно, что с уверенностью считать такое повышение результатом недостаточности надпочечников не представляется возможным. Определенно ясное повышение выражено только в мышцах, где оно в среднем равно по сравнению с контролем 30,2% для сульфгидрильной формы и 29,9% для общего

глутатиона, из чего следует, что повышение глутатиона в мышцах после эпинефрэктомии происходит за счет восстановленной формы его. Таким образом, работая на других животных и с другой методикой, мы, так же как Houssay и Mazzocco, получили при недостаточности надпочечников повышенное содержание глутатиона в мышцах при почти неизменном содержании его в печени, почках и крови.

Из этого следует, что различные ткани в отношении содержания в них глутатиона различно реагируют на недостаточность гормонов надпочечников. Уже из приведенных данных можно видеть, что гормоны или один из гормонов надпочечников оказывают влияние на содержание глутатиона в мышцах.

Нерезкие же сравнительно изменения содержания глутатиона в других тканях при недостаточности надпочечников можно, как нам кажется, объяснить или тем, что ни один из гормонов надпочечников не оказывает действия на глутатион в этих тканях, или тем, что различные гормоны надпочечников влияют на содержание глутатиона в них в противоположном направлении.

Опыты по изучению содержания глутатиона в тканях и в крови у животных с демедулляцией надпочечников

Для дальнейшего анализа данных, полученных на эпинефрэктомированных животных, были поставлены опыты на кошках с удаленным правым и демедуллированным левым надпочечником. У некоторых животных операция была произведена в два приема (удаление правого и через 15—30 дней демедулляция левого надпочечника). У другой части кошек обе операции производились сразу. Режим животных и способ взятия тканей были те же, что и в первой группе опытов.

Сравнение содержания глутатиона в печени, почках и крови животных с демедуллированными надпочечниками (табл. 3) с содержанием его у контрольных и эпинефрэктомированных животных показывает, что при этом заметного различия в содержании глутатиона нет. Как и в первой группе опытов, заметные изменения в содержании глутатиона наблюдаются только в мышечной ткани. Почти во всех этих опытах содержание глутатиона в мышцах снижено по сравнению с контролем (табл. 1) и еще более резко по сравнению с эпинефрэктомированными животными (табл. 2), и только в одном опыте (51) глутатион мышц был даже повышен и близок к тому, что мы наблюдали у эпинефрэктомированных кошек. В этом опыте у кошки наблюдались признаки недостаточности, что мы объясняем тем, что при демедулляции надпочечников в этом случае мы повредили также и кору.

В среднем найдено, что у кошек с демедуллированными надпочечниками содержание глутатиона в мышцах ниже, чем у контрольных животных, для *H-S*-формы на 33,1%, а для общего глутатиона на 32,9%, по сравнению с эпинефрэктомированными — ниже на 48,6% для *H-S*-формы и на 48,4% — для общего глутатиона. Иначе говоря, изменения общего глутатиона зависят исключительно от уменьшения сульфгидрильной формы его.

Как будет видно, анализ полученных изменений приводит к выводу, что изменения содержания глутатиона в мышцах эпинефрэктомированных животных зависят как от отсутствия гормонов коры, так и от отсутствия (или резкого недостатка) гормонов мозговой части.

Уменьшение содержания глутатиона в мышцах у кошек с демедуллированными надпочечниками можно было бы объяснить выпадением функции только мозговой части (которая в таком случае обладает дей-

Таблица 3. Содержание глутатиона в тканях и крови кошек с демудлированными надпочечниками (H—S—окисленная форма; S—S—восстановленная форма; S—общее содержание)

№ опыта	Глутатион в мг%											
	печень			почки			мышцы			кровь		
	H-S	S-S	S	H-S	S-S	S	H-S	S-S	S	H-S	S-S	S
41	294	62	356	117	36	153	24,0	0	24,0	24,5	3,1	27,6
42	282	24	256	104	34	138	25,8	0	25,8	38,7	1,3	40,0
43	270	31	301	158	65	223	14,7	0,6	15,3	38,7	3,7	37,4
44	256	44	300	108	24	132	18,5	0	18,5	30,0	2,6	32,6
511	263	44	307	125	68	193	44,1	0	44,1	28,4	6,2	34,6
522	250	65	315	163	30	193	22,4	0	22,4	38,7	2,1	40,8
533	233	13	246	122	56	178	28,0	2,5	30,5	—	—	—
543	297	35	332	169	49	218	14,1	8,4	22,5	30,7	3,9	34,6
182	—	—	—	—	—	—	7,3	0	7,3	—	—	—
192	—	—	—	—	—	—	22,0	0	22,0	—	—	—
202	—	—	—	—	—	—	11,0	0	11,0	—	—	—
213	—	—	—	—	—	—	7,4	3,0	10,4	—	—	—
253	—	—	—	—	—	—	30,6	3,7	34,3	—	—	—
Среднее	262	40	302	133	45	178	20,8	1,4	22,2	32,1	3,3	35,4
Без опыта № 51	—	—	—	—	—	—	18,9	1,4	20,3	—	—	—
												5,7
												—

¹ Кошка с признаками недостаточности

² Одномоментная операция

ствием, повышающим содержание глютатиона в мышцах). При допущении такой возможности следовало бы ожидать, что в мышцах животных с целиком удаленными надпочечниками также наступит уменьшение содержания его. Однако содержание глютатиона в мышцах таких животных не только не уменьшено, но, как это следует из первой группы опытов, даже несколько повышено. Таким образом, приходится признать, что снижение глютатиона в мышцах животных с демедуллированными надпочечниками зависит не только от выпадения мозговой части, но и от присутствия коры, гормон которой обладает, повидимому, обратным действием, снижающим содержание глютатиона в мышцах.

Таким образом, в регуляции содержания глютатиона в мышцах принимают участие как гормон коры, так и гормон мозговой части надпочечников, причем при полной эпинефректомии, повидимому, в большей мере сказывается выпадение тормозящего влияния коры, чем стимулирующего влияния мозговой части, так как глютатион мышц при этом повышается. При демедулляции имеет место выпадение стимулирующего влияния гормона мозговой части при остающемся тормозящем действии коры, вследствие чего глютатион мышц снижается.

Опыты с изучением содержания глютатиона в мышцах кошек после введения адреналина

Для того чтобы убедиться в правильности сделанного вывода, следовало поставить опыты с изучением влияния введения гормонов надпочечника на содержание глютатиона в мышцах. Однако, вследствие отсутствия в нашем распоряжении хорошего препарата кортина, мы поставили опыты только с адреналином.

Опыты эти ставились следующим образом. У нормального животного под эфирным наркозом стерильно брался кусочек мышцы правой задней лапы (m. biceps femoris) и исследовался на содержание глютатиона. Затем, через 18—20 дней, когда ранка окончательно заживала, животному в течение 7 часов вводился под кожу адреналин каждый час по 0,5 см³ раствора 1:1000.

После последнего введения у животного под эфирным наркозом, как и первый раз, бралась мышца левой задней лапы и в ней определялся глютатион. Barrenscheep и Beneschowsky (3) показали, что в одноименных мышцах разных лап содержится одно и то же количество глютатиона. В специальных контрольных опытах мы убедились в том, что содержание глютатиона в одноименных мышцах правой и левой лап не подвергается значительным изменениям в течение 30 дней.

Таблица 4. Содержание глютатиона в мышцах нормальных кошек до и после введения им адреналина (H—S — окисленная форма; S—S — восстановленная форма; S — общее содержание)

№ опыта	Глютацион в мг%						Изменения в %	
	до введения адре- налина			после введения адреналина				
	H-S	S-S	S	H-S	S-S	S	H-S	S
27	24,5	0	24,5	31,9	0	31,9	+30,2	+30,2
28	30,7	0	30,7	23,5	0	23,5	-23,4	-23,4
29	22,1	9,8	31,9	25,1	0,6	25,7	+13,6	-19,4
30	35,7	0	35,7	43,7	0	43,7	+22,4	+22,4
31	28,2	3,2	31,4	30,7	0	30,7	+ 8,8	- 2,2

Из 5 опытов в 2 содержание глютатиона повысилось (опыты № 27 и 30), в 2 понизилось (опыты № 28 и 29) и в 1 почти не изменилось.

Таким образом, опыты эти не дали ожидаемого постоянного результата в смысле повышения содержания глутатиона в мышцах нормальных кошек. Было естественно предположить, что такой непостоянный результат зависит от того, что для нормальной регуляции содержания глутатиона в мышцах необходимо определенное количество адреналина, наличие которого вполне обеспечивалось надпочечниками животного. При введении избытка адреналина, как это имело место в наших опытах, мышца не реагировала или реагировала иначе. Поэтому мы решили повторить опыты с введением адреналина на кошках с демедуллированными надпочечниками, т. е. на таких животных, у которых, по нашему предположению, вследствие недостатка адреналина, содержание глутатиона было снижено.

Таблица 5. Содержание глутатиона в мышцах кошек с демедуллированными надпочечниками до и после введения адреналина (*H-S* — окисленная форма; *S-S* — восстановленная форма; *S* — общее содержание)

№ опыта	Глютатион в мг%						Изменения в %	
	до введения адре- налина			после введения адреналина				
	H-S	S-S	S	H-S	S-S	S	H-S	S
34	24,0	0	24,0	32,5	0	32,5	+35,4	+35,4
35	25,8	0	25,8	30,1	0	30,1	+16,6	+16,6
36	30,6	3,7	34,3	36,6	2,1	38,7	+19,6	+12,8
37	14,7	0,6	15,3	17,2	7,3	24,5	+17,0	+60,1
38	18,5	0	18,5	25,0	0,6	25,6	+35,1	+38,3
Среднее	22,7	0,9	23,6	28,3	2,0	30,3	+24,7	+32,6

Во всех 5 опытах этой группы введение адреналина вызвало повышение содержания глутатиона в мышцах (в среднем на 24,7% для *H-S*-формы и 32,6% для суммы). Таким образом, опыты этой группы показали, что введением адреналина можно повысить сниженное у кошек с демедуллированными надпочечниками содержание глутатиона в мышцах.

Выводы

1. Содержание глутатиона в печени, почках и крови эпинефректормированных кошек почти не изменено (слегка повышено) по сравнению с таковыми у контрольных животных.

2. У кошек с удалением правого и демедулляцией левого надпочечника также нет заметных изменений содержания глутатиона в этих тканях.

3. Содержание глутатиона в мышцах повышено (в среднем на 30%) после удаления двух надпочечников и понижено (в среднем на 33%) после удаления правого и демедулляцией левого надпочечника. Эти изменения осуществляются за счет увеличения или уменьшения сульфгидрильной формы глутатиона.

4. Введением адреналина удается повысить содержание глутатиона в мышцах демедуллированных кошек.

5. Гормоны надпочечника принимают участие в регуляции содержания глутатиона в мышцах. Адреналин повышает, а гормон коры снижает глутатион мышц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bumm u. Appel, *Zeitschr. physiol. Chemie*, **210**, 79, 1932.—2. Lohmann, *Biochem. Zeitschr.*, **254**, 331, 1932.—3. Barrenscheen u. Beneschowsky, *Biochem. Zeitschr.*, **255**, 553, 1932.—4. Jowett a. Quastell, *Biochem. Journ.*, **27**, 486, 1933.—5. Platt a. Schroeder, *Journ. biol. chem.*, **104**, 281, 1934.—6. Waldschmidt-Leitz u. Schöffner, *Naturwissensch.*, Nr. 122, 1932.—7. Quensel u. Wachholder, *Pflüg. Arch.*, **235**, 70, 1934.—8. Pringsheim, Borchardt u. Hupfer, *Biochem. Zeitschr.*, **250**, 109, 1932; **254**, 134, 1933; **238**, 476, 1931; *Naturwissensch.*, Nr. 20, 64, 1932.—9. Waldschmidt-Leitz, Schöffner u. Kocholaty, *Naturwissensch.*, Nr. 19, 964, 1 31.—10. Grassmann u. Mitarb., *Zeitschr. physiol. Chemie*, **183**, 112, 1930; **186**, 183, 1930; **189**, 112, 1930; **194**, 124, 1931.—11. Maschmann u. Gelmert, цит. по Гольдштейну.—12. Bierich u. Rosenbohm, *Zeitschr. physiol. Chemie*, **215**, 151, 1933; **223**, 136, 1933; **231**, 139, 1935.—13. Гольдштейн, Биохимия тканевых протеинов, Киев, 1938.—14. Zunz, *C. r. Soc. biol.*, **III**, 652, 1932.—15. Zunz et Vesselowsky, *C. r. Soc. biol.*, **123**, 114, 1936.—16. Winter, Raiss u. Waldecasas, *Endocrin.* **II**, 171, 1932.—17. Houssay et Mazzocco, *C. r. Soc. biol.*, **97**, 417, 1927.—18. Woodward a. Fry, *Journ. biol. chem.*, **97**, 475, 1932.—19. Quensel u. Wachholder, *Zeitschr. physiol. Chemie*, **231**, 65, 1935.

ON THE EFFECT OF THE HORMONES OF THE ADRENAL CORTEX AND MEDULLA UPON THE GLUTATHION CONTENT OF THE TISSUES AND BLOOD

S. V. Ilyin

Laboratory of Physiological Chemistry
(Head—Prof. N. V. Vesselkin) of the
State P. F. Lessha't Institute of Natural
Sciences, Leningrad

1. The glutathion content of the liver, kidneys and blood of epinephrectomized cats is almost unaltered (slightly increased) as compared to the organs and blood of the control animals.
2. Removal of the right adrenal and demedullation of the left one in the cat also fails to induce significant alterations of the glutathion content of the mentioned tissues.
3. The glutathion content of the muscles is increased (30%, on the average) after removal of both adrenals and lowered (by 33%, on the average) after removal of the right and demedullation of the left adrenal. These alterations take place at the expense of increase or decrease of the amount of reduced glutathion.
4. The glutathion content of the muscles of demedullated cats can be increased by means of adrenalin administration.
5. The hormones of the adrenal take part in the regulation of the glutathion content of the muscles. Adrenalin increases, and the cortical hormone decreases the amount of glutathion in the muscles.

СОДЕРЖАНИЕ ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ В ПРЕДСЕРДИЯХ ЭМБРИОНА

Н. М. Шамарина

Из физиологической лаборатории
(зав.—проф. А. Г. Гинецинский) Ле-
нинградского педиатрического меди-
цинского института

Поступила в редакцию 22.IV.1939 г.

В работе Hänsen и Rech (1) было впервые установлено, что раздражение п. vagi матери вызывает замедление сердцебиений плода. В дальнейшем данные Hänsen и Rech были повторены и уточнены Гинецинским и Шамариной (2), причем было показано, что после раздражения блуждающего нерва матери: 1) замедление сердцебиений плода длится значительно большее время, чем замедление сердцебиений матери, и 2) при внутривенном введении ацетилхолина матери сердце плода реагирует на меньшие концентрации последнего, чем сердце матери. Учитывая путь ацетилхолина от места введения в кровь матери до сердца плода и крайне быструю разрушаемость ацетилхолина кровью взрослых организмов, авторы высказали предположение, что возможность передачи вагусного медиатора от матери к плоду может быть обусловлена высокой чувствительностью эмбрионального сердца к ацетилхолину. Эта предполагаемая высокая чувствительность, равно как и чрезвычайная длительность эффекта, могла бы быть рассматриваема с точки зрения недостаточности инактивирующего действия холинэстеразы в эмбриональной ткани. Для проверки этого предположения нами были предприняты опыты с определением холинэстеразы в эмбриональных сердцах, так как богатая литература по вопросу о содержании холинэстеразы в различных органах не дает указаний относительно содержания последней в эмбриональных тканях¹. С этой целью были произведены следующие исследования: 1) определение силы инактивирующего ацетилхолин фермента в предсердиях взрослого организма; 2) определение фермента в предсердиях эмбриона; 3) определение фермента в предсердиях новорожденных.

Методика

В основном все опыты были произведены на эмбрионах кроликов. Отдельные опыты были поставлены на морских свинках (2 опыта), крысах (4 опыта) и собаке (1 опыт). Исследование содержания холинэстеразы в эмбриональном сердце производилось в мускулатуре предсердий, так как у теплокровных, по данным Engelhardt, только мускулатура предсердий содержит холинэстеразу, желудочки же почти не обладают инактивирующим действием. Этот факт подтвердился и в наших опытах на предсердиях и желудочках эмбриональных и взрослых сердец. Опыты с определением содержания холинэстеразы или, вернее, с определением активности вытяжки из ткани предсердий состояли из двух этапов. Первый — извлечение фермента, второй — определение силы действия последнего. Извлечение ферментов производилось обычным способом [Engelhardt (3)]. Навеска отмытой от крови и измельченной ткани предсердия растиралась с определенным, соответствующим навеске количеством кварцевого песка и раствором Рингера. Раствор прибавлялся из расчета 1 см³ на каждые 10 мг ткани. После тщательного растирания взвесь центрифугировалась. Полученный экстракт ставился в водную

¹ Работа Marnay и Nachmansohn (8), дающая материал по холинэстеразе в скелетной мышце эмбриона, появилась после того, как было закончено настоящее исследование.

баню на 1 час при 38° для разрушения собственного тканевого ацетилхолина. Получив таким образом вытяжки из предсердия матери и плода (эти исследования производились всегда параллельно), мы приступали к определению их активности. Для этой цели тканевая вытяжка смешивалась с определенным количеством ацетилхолина так, чтобы концентрация ацетилхолина в растворе равнялась 1:10⁻¹. К раствору прибавлялась буферная фосфатная смесь с таким расчетом, чтобы pH был равен 7,6. Смесь ставилась в водяную баню при 38°, и через каждые 5—10 минут исследовалось количество оставшегося ацетилхолина. Концентрация последнего определялась биологически. Индикатором служило сердце лягушки, изолированное по Straub. В начале и в конце опыта определялась чувствительность сердца к различным концентрациям ацетилхолина. На основании этих данных мы строили градуировочную кривую. Зная процент уменьшения сокращений сердца при действии исследуемого раствора, т. е. смеси ацетилхолина с холинэстеразой, мы могли сказать (по кривой), какой концентрации ацетилхолина соответствует раствор, иначе говоря, какое количество ацетилхолина осталось в растворе после действия тканевого экстракта. Учитывая исходную концентрацию ацетилхолина и все разведения, производимые в процессе опыта, мы могли рассчитать, какое количество ацетилхолина разрушено холинэстеразой через определенный промежуток времени. Конечный результат в наших опытах выражен в 10⁻⁸ г ацетилхолина, разрушенного ферментом, содержащимся в 5 мг ткани, при действии его на 1 см³ раствора, содержащего ацетилхолин в количестве 100.10⁻⁸ г. По этим данным мы строили кривую зависимости количества разрушенного ацетилхолина от времени действия фермента.

Если мы примем во внимание, что наше исходное количество ацетилхолина составляет 100.10⁻⁸ г, то тогда цифры разрушенного ацетилхолина, выраженные в 10⁻⁸ г, одновременно могут обозначать процент разрушения ацетилхолина. Нужно отметить, что для большей точности было бы желательно наши данные разрушенного ферментом ацетилхолина относить к весу сухого остатка ткани, из которой получена вытяжка, т. е. исключить ту возможную ошибку, которая зависит от различного процентного содержания воды в тканях эмбрионального и взрослого организмов. Технические трудности не позволили нам осуществить определение воды в тканях. Дело в том, что нам приходилось иметь дело с ничтожным количеством ткани предсердий эмбрионов. От 8—9 20—25-дневных кроличьих эмбрионов мы получали 15—25 мг ткани; выделить отсюда еще часть для определения сухого остатка было бы крайне затруднительно. По данным Fehling, содержание воды в тканях 20-дневного эмбриона кролика колеблется от 75 до 90%. Если, исходя из максимального содержания воды, произвести перерасчет и внести поправку на большее разведение холинэстеразы в эмбриональных тканях по сравнению с тканями взрослого организма, то в основном результат опытов не изменится. Кроме того, принципиально мы не считаем более правильным относить результаты к весу сухого остатка. Поскольку большая гидрофильность коллоидов является характерным признаком эмбриональных тканей, нет основания исключать влияние воды, являющейся растворителем холинэстеразы.

Результаты опытов

а) Активность холинэстеразы в предсердиях взрослого организма. Исследование содержания холинэстеразы в эмбриональных тканях потребовало предварительного определения интенсивности процесса инактивации ацетилхолина холинэстеразой предсердий взрослого животного. Возник вопрос, существуют ли определенные величины содержания холинэстеразы в тканях, насколько они постоянны и можно ли говорить о каких-либо нормах для данного вида животных. Для этой цели нами было произведено определение инактивирующего действия холинэстеразы у взрослых организмов. Исследования произведены на 13 кроликах, 2 морских свинках, 4 крысах и один опыт был поставлен на собаке (рис. 1).

Оказалось, что крыса по интенсивности действия фермента стоит несколько в стороне от других объектов исследования. В то время как у кролика на 5-й минуте действия вытяжка из предсердий разрушает в среднем 27% ацетилхолина, у морской свинки — 22%, у собаки — 20%, у крысы процент разрушения ацетилхолина на 5-й минуте во всех 4 случаях достигает 53. Рассматривая материал внутри каждой группы, можно убедиться в том, что зона индивидуальных колебаний сравни-

тельно невелика. У крысы, например, максимальная величина разрушения на 20-й минуте составляет 97%, а минимальная — 83%. Несколько большие колебания дают опыты на кроликах. Так, на 45-й минуте максимум разрушения ацетилхолина составляет 100%, минимум же 67%, и только 1 случай из 13 дал резко пониженную активность действия холинэстеразы.

Ту же картину мы получаем при рассмотрении материала времени полного разрушения ацетилхолина. Холинэстераза предсердия крысы уже на 30—40-й минуте практически полностью разрушает ацетилхолин (99,

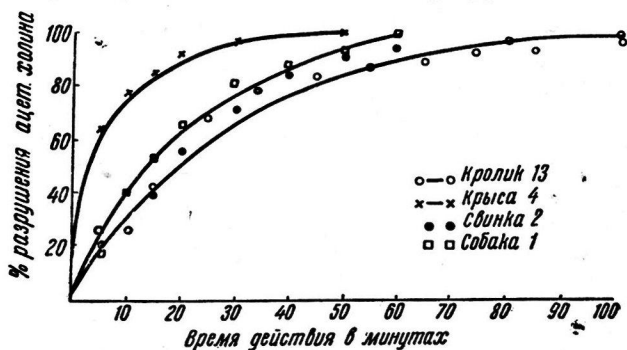


Рис. 1. Скорость разрушения ацетилхолина вытяжкой из предсердий взрослых животных. На оси абсцисс — время действия экстракта в минутах, на оси ординат — процент разрушения ацетилхолина. Каждая точка на кривой представляет собой среднюю величину из всех индивидуальных опытов. ○—○ — кролики; ×—× — крысы; ●—● — морские свинки; □—□ — собаки

98, 99 и 100% разрушения). У кролика же из 13 опытов только в 1 случае наблюдалось полное разрушение ацетилхолина на 45-й минуте. Как правило, 100% ацетилхолина разрушаются только в 85—100 минут. На нашем материале мы не получили той закономерности, которая была обнаружена Plattner (4), Feldberg и Rempel (5) для крови различных животных. По данным этих авторов, наименьшее разрушающее действие оказывает кровь морской свинки. В наших опытах с холинэстеразой ткани предсердия мы этого не нашли. Повидимому, активность фермента крови не находится в каком-либо соотношении с активностью фермента других тканей.

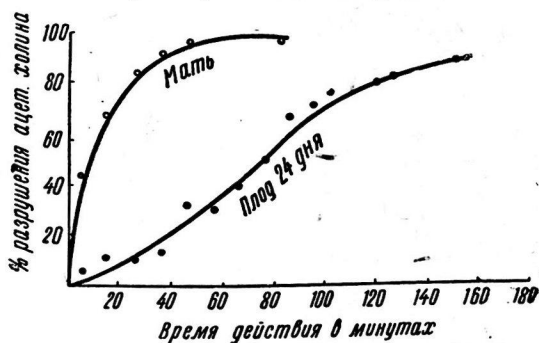
Приведенный выше материал позволяет нам считать, что при данных условиях опыта количество холинэстеразы в предсердиях определенного вида животных есть более или менее постоянная величина, колеблющаяся в сравнительно небольших пределах.

б) Содержание холинэстеразы в предсердиях эмбрионов. Опыты с определением активности фермента в предсердиях эмбрионов проведены в основном на кроликах. Выбор этого объекта был продиктован возможностью точного определения возраста плода у кролика, что было крайне важно для определения возрастной зависимости содержания холинэстеразы в тканях.

Холинэстераза определялась, начиная с 20-дневного возраста эмбрионов и кончая последними днями беременности, т. е. 30—31-дневными плодами. На кроликах проведены 12 опытов. Результат опытов оказался вполне определенным: чем меньше возраст эмбриона, тем медленнее идет разрушение ацетилхолина ферментом эмбрионального предсердия. На рис. 2 даны величины разрушения ацетилхолина предсердиями 24-дневного эмбриона. Для сравнения нанесена кривая разрушения ацетилхолина вытяжкой из предсердия матери.

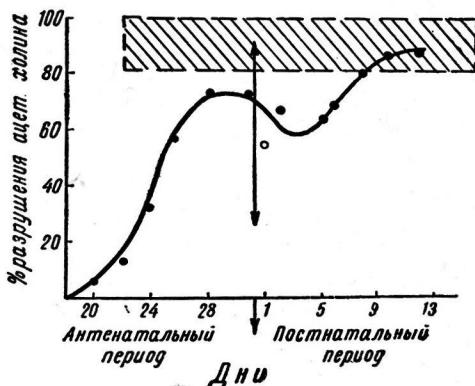
Оказалось, что все кривые разрушения ацетилхолина холинэстеразой плода лежат ниже материнской кривой. При этом наблюдается определенная закономерность. Чем меньше возраст исследуемого эмбриона, тем ниже лежит кривая и тем более она сдвинута вправо, т. е. тем слабее действие холинэстеразы и, следовательно, тем больше требуется времени для полного разрушения ацетилхолина. Эстераза взрослого кролика на 80—100-й минуте полностью разрушает данное количество ацетилхолина, в то время как вытяжка из предсердий 28—30-дневных эм-

Рис. 2. Сравнение активности вытяжки из предсердий взрослого кролика и эмбриона. Обозначения см. на рис. 1



брионов дает в среднем 90—85% разрушения (среднее из 4 опытов), 20-дневные эмбрионы разрушают всего 70—80% ацетилхолина (1 случай дал даже 10%) и, наконец, эстераза предсердий 20-дневных эмбрионов на 100-й минуте разрушает лишь 30—40% ацетилхолина. На рис. 3

Рис. 3. Скорость разрушения ацетилхолина экстрактами из предсердий эмбрионов кролика. На оси абсцисс отложены дни эмбриональной и постнатальной жизни, на оси ординат — процент разрушения ацетилхолина через 50 минут действия экстракта. Стрелка обозначает рождение кролика. Заштрихованный прямоугольник представляет зону индивидуальных колебаний активности экстрактов предсердий взрослых животных



представлены количества ацетилхолина, разрушенного эстеразой предсердия кролика на 50-й минуте действия фермента в зависимости от возраста. Данные взяты из соответствующих индивидуальных кривых разрушения ацетилхолина. Для сравнения нанесена зона колебания разрушения ацетилхолина эстеразой матери. Нижняя граница колебаний материнских точек не спускается ниже 80% (кроме 1 случая, давшего 67%) и не включенного в средние величины), кривая же разрушения ацетилхолина эмбриональными сердцами неуклонно идет вниз с уменьшением возраста эмбриона.

Убедившись в том, что скорость разрушения ацетилхолина ферментом предсердий 28—31-дневных эмбрионов кролика приближается к скорости разрушения ферментом предсердий матери, мы продолжили наши исследования на новорожденных кроликах. Опыты были проведены на 7 кроликах в возрасте 1, 2, 5, 6, 8, 10 и 12 дней, причем некоторые из них были от одной матки. Из рис. 3 мы видим, что если величины разрушения ацетилхолина 8-, 10- и 12-дневных кроликов совпадают с ве-

личинами, характерными для взрослого организма, то активность вытяжек из предсердий 1—6-дневных кроликов несколько ниже и приближается к активности вытяжек из предсердий эмбрионов последней стадии развития.

Отдельные опыты на плодах крыс и собак дали сходные результаты. Содержание холинэстеразы в предсердиях эмбрионов оказалось меньше, чем у матери. Кривая разрушения ацетилхолина ферментом предсердий плода на 15—30% ниже соответствующей материнской кривой. Несколько обособленно стоит материал опытов на морской свинке. Оказалось, что кривая разрушения ацетилхолина ферментом предсердий плода морской свинки совпадает или идет даже несколько выше соответствующей материнской кривой.

Эти данные на первый взгляд противоречат материалу, полученному на других животных. Однако они, естественно, объясняются тем, что, как известно, плод морской свинки рождается гораздо более сформированным по сравнению с кроликом. Вполне вероятно, что если сердце плода кролика по силе действия фермента только на 8—12-й день достигает взрослого состояния, то морская свинка, благодаря особенностям своего внутриутробного развития, достигает аналогичного состояния еще в эмбриональном периоде. Мы исследовали морскую свинку в последней стадии эмбрионального развития, более же ранние стадии нами прослежены не были.

Параллельно с исследованием активности холинэстеразы предсердий в некоторых опытах нами производилось определение инактивирующего действия экстракта желудочка эмбриональных и взрослых сердец. Результаты опытов полностью совпадают с данными Engelhart. Инактивирующее действие экстракта ткани желудочка как взрослого, так и эмбрионального сердца оказалось ничтожным. На 85—100-й минуте, когда вытяжка предсердия полностью разрушает данное количество ацетилхолина, холинэстераза ткани желудочка почти не вызывает никакого эффекта.

Обсуждение результатов

Полученные результаты позволяют нам сделать следующие выводы. Содержание холинэстеразы в предсердиях кроличьих эмбрионов значительно ниже, чем у взрослого организма. По мере развития эмбриона активность холинэстеразы увеличивается, достигая максимума в последние дни эмбрионального периода. В это время содержание холинэстеразы еще несколько отстает от материнских величин. Сразу после рождения содержание холинэстеразы несколько падает сравнительно с величинами последних дней эмбрионального периода. Но уже на 5-й день вновь наступает нарастание активности экстракта мышцы предсердия, которое на 10—12-й день достигает величин, свойственных взрослому организму.

Морские свинки, рождаясь более зрелыми, повидимому, уже в период эмбрионального развития достигают такого содержания холинэстеразы, которое у кроликов наступает лишь на 8—12-й день жизни.

В условиях нашего исследования, где мы имели дело с вытяжкой из ткани, понижение инактивирующего действия экстракта можно рассматривать или как понижение количества холинэстеразы, или как ослабление ее активности. Каково бы ни было объяснение, мы имеем определенный факт резкого замедления разрушения ацетилхолина холинэстеразой эмбрионального предсердия по сравнению с действием фермента предсердий взрослого животного.

Возникает вопрос, можем ли мы, исходя из полученных нами данных, объяснить эффект передачи вагусного медиатора от матери к плоду недостаточной активностью фермента у эмбриона. Опыты с передачей вагусного медиатора от матери к плоду в работе Гинецинского и Шамариной (2) проведены в основном на морских свинках и отчасти на кроликах в последней стадии беременности, т. е. именно в тот период, когда сила инактивирующего действия холинэстеразы в предсердиях плода или несколько понижена (кролик), или совершенно не отличается (морская свинка) от холинэстеразы предсердия матери. Это сопоставление приводит нас к выводу, что феномен передачи вагусного медиатора матери на сердце плода и длительность этого эффекта не могут быть объяснены недостаточностью инактивирующего действия холинэстеразы предсердия плода. Вряд ли также можно феномен передачи вагусного медиатора на сердце плода объяснить высокой чувствительностью эмбрионального сердца к ацетилхолину. Произведенные нами ориентировочные опыты не дали положительных результатов. Повидимому, высказанные Гинецинским и Шамариной предположения не подтверждаются экспериментальными данными, и причина реакции сердца плода на раздражение блуждающего нерва матери определяется какими-то иными, пока еще неизвестными физиологическими закономерностями.

Факт нарастания активности действия холинэстеразы в эмбриональных предсердиях по мере развития последних позволяет высказать предположение, что содержание холинэстеразы в тканях связано со степенью функционального развития нервной системы. Возможно, что пониженное содержание холинэстеразы в эмбриональных сердцах имеет своей причиной именно функциональную недостаточность *n. vagi* в эмбриональном периоде, отмеченную всеми авторами, раздражавшими этот нерв у эмбрионов. Engelhart (3) еще в 1930 г. указал, что только в тех тканях, где есть специальная иннервация (например, в предсердиях и желудочках лягушки и предсердиях теплокровных), имеется и холинэстераза; в тканях, не имеющих парасимпатической иннервации (как, например, в желудочке сердца теплокровных), не была обнаружена и холинэстераза. Аналогичные результаты получены Brücke (6). Автор, исследуя содержание холинэстеразы в нормальных симпатических ганглиях и в ганглиях после перерезки преганглионарных волокон, обнаружил, что содержание фермента после перерезки преганглионарных волокон резко падает. И, наконец, последние данные Marnay и Nachmansohn (7) с исследованием содержания холинэстеразы в нервном и безнервном участках *m. sartorii* лягушки окончательно убеждают, что содержание холинэстеразы связано с наличием нервных окончаний.

Можно думать, что функциональная недостаточность нервной системы в эмбриональном периоде обуславливает и малое содержание холинэстеразы. Только по мере функционального созревания иннервационного аппарата активность процессов, обеспечивающих быстрое разрушение образовавшегося в процессе возбуждения медиатора, достигает интенсивности, свойственной тканям взрослых организмов.

Выводы

1. Содержание холинэстеразы в предсердиях эмбрионов кролика ниже, чем у взрослого организма.
2. По мере развития эмбриона содержание холинэстеразы в предсердиях увеличивается. Это нарастание холинэстеразы в предсердиях продолжается и в постнатальном периоде. На 8—12-й день после рожде-

ния сила инактивирующего действия холинэстеразы предсердия достигает величины, свойственной взрослому организму.

3. Морские свинки, рождаясь более зрелыми, повидимому, уже к концу эмбрионального периода по величине содержания холинэстеразы в предсердиях достигают уровня взрослого организма.

4. Причина реакции сердца плода на раздражение блуждающего нерва матери, повидимому, не стоит в связи с понижением содержания холинэстеразы в эмбриональных сердцах. Причина вышеуказанного феномена обусловлена какими-то иными, ближе не известными закономерностями.

5. Нарастание содержания холинэстеразы в ткани сердца по мере развития последнего, вероятно, находится в связи с функциональным созреванием окончания блуждающего нерва.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hansen u. Rech, Ztschr. Biol., 92, 1932.—2. Гинецинский и Шамарина, Физиол. журн. СССР, XXV, 655, 1938.—3. Engelhart, Pflüg. Arch., 225, 721, 1930.—4. Galehr u. Plattner, Pflüg. Arch., 218, 488, 1927.—5. Feldberg u. Rempel, цит. по Feldberg u. Krauer, Arch. exp. Path. u. Pharm., 172, 170, 1933.—6. Brüche, Journ. physiol., 86, 429, 1937.—7. Marnay a. Nachmansohn, Journ. physiol., 92, 37, 1938.—8. Marnay a. Nachmansohn, Journ. physiol., 1939.

DER GEHALT DER VORHÖFE DES EMBRYOS AN CHOLINESTERASE

N. M. Schamarina

Aus dem physiologischen Laboratorium
(Vorst.: Prof. A. G. Ginezinsky) des
Instituts f. Kinderheilkunde,
Leningrad

In der vorliegenden Arbeit wurde die Aktivität der Cholinesterase in Extrakten aus den Vorhöfen von Embryonen und neugeborenen Tieren bestimmt. Die Untersuchung wurde hauptsächlich an Kaninchen durchgeführt, teils auch an Meerschweinchen und Ratten. Der Cholinesterase-Gehalt wurde verfolgt bei Embryonen vom 18—20-tägigen Alter an und bei neugeborenen Tieren im Laufe von 10—12 Tagen nach der Geburt. Als Mass der Aktivität der Cholinesterase diente die Menge des von den Vorhofextrakten gespaltenen Acetylcholins.

Die Versuche ergaben, dass der Gehalt der Cholinesterase in den Vorhöfen der Embryonen viel geringer ist als in den Vorhöfen erwachsener Tiere. Mit fortschreitender Entwicklung der Embryonen nimmt aber die Aktivität der Cholinesterase zu und erreicht die Werte des erwachsenen Organismus entweder in den letzten Tagen der antenatalen Periode (beim Meerschweinchen), oder am 10—12 Tag nach der Geburt (beim Kaninchen), wahrscheinlich im Zusammenhang mit dem Grad der Entwicklung des Fötus um den Zeitpunkt der Geburt.

Der Anstieg des Gehalts der Vorhöfe der Embryonen an Cholinesterase mit fortschreitender Entwicklung steht offenbar im Zusammenhang mit der Ausbildung der Innervation.

ИЗМЕНЕНИЯ ОБЩЕГО АЗОТА И ПРЕФОРМИРОВАННОГО АММИАКА В ОРГАНАХ КРОЛИКА В ОНТОГЕНЕЗЕ И ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

СООБЩЕНИЕ I. ВОДА И ОБЩИЙ АЗОТ В МОЗГУ, СЕРДЦЕ, ЛЕГКИХ, МЫШЦАХ,
ПЕЧЕНИ И ПОЧКАХ КРОЛИКОВ В ЭМБРИОНАЛЬНОМ И ПОСТНАТАЛЬНОМ
ПЕРИОДАХ

Е. Я. Гейман

Из Биостанции им. акад. И. П. Павлова (дир.—
акад. Л. А. Орбели) и биохимической лабора-
тории (зав.—проф. В. С. Садиков) Физиологиче-
ского института им. акад. И. П. Павлова (дир.—
акад. Л. А. Орбели) Академии наук СССР

Поступила в редакцию 16 I 1939 г.

В то время как эволюционная морфология в последарвиновский период непрерывно обогащалась новыми фактами и закономерностями, эволюционная физиология и биохимия только недавно стали предметом тщательного изучения. Однако работы ряда лабораторий (акад.: Орбели, Гулевича, Палладина, проф.: Коштоянца, Гефтер, Капланского, Нагорного, Ковальского, Фердмана, Гольденберга, Городисской; за границей — Needham, Delaunay и др.) уже показали, насколько плодотворно и богато перспективами направление, пытающееся восполнить пробел в изучении взаимосвязи формы и функции.

В этой области исключительное внимание привлекает к себе проблема соотношения онто- и филогенеза.

Общей морфологической закономерностью индивидуального развития считается явление рекапитуляции, учение о котором развито Дарвином и сформулировано теоретически Геккелем как основной биогенетический закон, согласно которому онтогенез повторяет собой филогенез; отсюда — изучение последовательных стадий онтогенеза может раскрыть сложный ход исторического развития. Понимаемая более широко рекапитуляция, по акад. А. Н. Северцову, является воспроизведением признаков не только взрослых, но и эмбриональных состояний. Некоторые эмбриональные процессы — филэмбриогенезы — сохраняются во взрослом состоянии в качестве новых признаков потомков, и, следовательно, взаимосвязь онто- и филогенеза является двусторонней.

Закон рекапитуляции является, очевидно, общим законом, и Needham приводит ряд примеров химической рекапитуляции: последовательность смены экскреции азотистых продуктов куриным эмбрионом, соответствующую подобной же смене в филогенезе (аммонто-, урео- и урико-гелический типы экскреции), порядок появления в онто- и филогенезе ферментов и др.

Настоящая работа была предпринята с двоякой целью:

1. Чтобы изучить распределение общего азота, воды и преформированного аммиака в органах и тканях млекопитающих в разных стадиях индивидуального развития. Мы рассчитывали этим восполнить одно из многочисленных недостающих звеньев связи между формой и функцией, необходимых для понимания процесса развития высшего животного организма — человека.

2. Чтобы, сопоставляя получаемые данные со своими и других авторов филогенетическими исследованиями, главным образом по префор-

мированному аммиаку, попытаться выяснить в этом вопросе соотношение онто- и филогенеза.

Постановка опытов

Нами изучалось содержание всды, общего азота и свободного преформированного аммиака в тканях и органах кролика в эмбриональном (20—25—30 дней) и раннем постнатальном (1, 3, 12, 34 дня) периодах (в более ранние сроки органы эмбриона по своим размерам и развитию оказались недоступны исследованию, у 15-дневных эмбрионов ткани брались целиком). Исследовались головной мозг (полушария), скелетные мышцы (мышцы задних конечностей), мышца сердца, легкие, печень и почки. Мы пытались подбирать сроки так, чтобы они отражали существенные биологические моменты в процессе развития животного. Избрав животное с коротким (30 дней) внутриутробным периодом, мы имели возможность наблюдать, как, наряду с интенсивным и неравномерным для каждого 5-дневного промежутка накоплением массы тела, менялось содержание воды, общего азота и аммиака в тканях плода. 30-й день, последний день утробного существования, в сопоставлении с 1-м днем внеутробной жизни животного дает нам представление о том, как отражается переход к новым условиям на изучаемых нами факторах. В возрасте 3—4 дней животное должно было уже «акклиматизироваться» к внеутробному существованию и яснее проявить характерные для новорожденного особенности. В возрасте 12 дней в организме только что прозревшего кролика происходит ряд существенных сдвигов: уменьшается вдвое длительность мышечного сокращения (Кош-тоянц и Рябиновская) и меняется его характер (Розанова), впервые становится возбудимой кора. Наконец, в возрасте около 1 месяца животное, продолжая интенсивно расти, переходит на самостоятельное питание. Таким образом, выбор нами сроков исследования не был случайным. Данные по онтогенетическим изменениям мы сравнивали с материалом, полученным нами на взрослых небеременных кроликах (самках).

Методика

В первых наших опытах беременное животное убивалось введением воздуха в ушную вену. В дальнейшем мы производили лапаротомию у живого животного без наркоза¹ (кролик ведет себя при этом сравнительно спокойно), быстро вскрывали матку и плодные оболочки и последовательно извлекали эмбрионов. Живой, реагирующий на укол эмбрион вскрывался, органы немедленно опускались в жидкий кислород и служили для определения преформированного аммиака (сообщение II). Для определения сухого веса и общего азота органы измельчались ножницами и в предварительно взвешенный бюкс бралась навеска 0,2—0,3 г как среднее из двух-трех одноименных органов.

Та же техника применялась по отношению к маленьким кроликам².

Возраст эмбрионов устанавливался по времени случки, которая всегда происходила под нашим контролем. Мы считаем такой способ определения единственно приемлемым, хотя и не всегда вполне точным, так как оплодотворение яйца может задержаться. Применяемое в некоторых работах определение возраста эмбрионов по весу может дать лишь грубо приближительные результаты. Еще Преугер указал на значительные различия в величине и весе эмбрионов морской свинки даже одного помета. Мы получили до 25—50% разницы в весе между отдель-

¹ Наркоз может внести изменения в обмен эмбриона и потому для наших опытов непригоден: так, например, угнетение центральной нервной системы уретаном вызывает уменьшение образования аммиака в мозговой ткани (Владимирова).

² Плод (20—25 дней) живет несколько минут после смерти матери от воздушной эмболии, очевидно, довольствуясь малым количеством кислорода. Эмбрионы в возрасте 28—30 дней вполне способны к самостоятельному существованию, ничем не отличаясь в этом отношении от новорожденных. Легкие их в отличие от легких 25-дневных плодов всплывают в воде. Весьма активная реакция эмбриона и 1—3-дневного кролика на раздражение, очевидно, не связана еще с корой, так как движения конечностей и всего туловища совершаются и у ацефалов.

ными эмбрионами одного помета. В разных пометах одного возраста различия доходят до 100% и больше, причем какой-либо закономерной зависимости между весом матери, количеством и средним весом потомства заметить не удалось (средний вес 20-дневных эмбрионов наших опытов оказался на много больше среднего веса эмбрионов в работе Палладина и Рашба). Интенсивность накопления массы тела у эмбриона кролика чрезвычайно велика. Средний вес эмбриона в 15 дней равен 0,4—0,6 г. Он удесятерается к 20 дням, через 5 дней еще утраивается и к самому концу беременности — к 30-му дню — увеличивается еще в 2—2,5 раза. Таким образом, вес 30-дневного эмбриона в 60—70 раз больше веса 15-дневного. Различия между отдельными возрастами перекрывают индивидуальные внутривозрастные колебания, поэтому приблизительно судить о возрасте по весу все-таки можно, но очень неточно.

Таблица 1

№ исследования	Вес матери в г	Возраст эмбриона в днях	Количество	Вес эмбриона в г	Среднее
XII	—	15	1	0,4	—
9	2 890	19	8	2,7	—
XXIV—XXV	2 860	20	8	9,5; 9,0	9,25
IV		20	7	5,1; 5,0; 4,8; 4,7	4,9
Средний вес 20-дневного эмбриона . . .					7,07
XVIII—XIX	2 550	25	5	27,2; 23,5; 22,2	24,3
XVI—XVII	3 010	25	6	20,6; 18,7; 17,9; 17,2; 16,7	18,2
6	3 900	25	10	20,9; 20,8; 19,1; 19,0	19,9
14—15	3 350	25	8	23	23
Средний вес 25-дневного эмбриона . . .					21,3
II		30	11	54,9; 53,1; 50,5; 50,0; 48,6; 41,7	49,8
XIV—XV	2 980	30	5	59,0; 51,7; 50,0; 43,0; 40,0	49,7
XX—XXI	3 500	30	9	51,0; 50,0; 49,0; 48,0; 46,0; 43,0; 42,0; 42,0; 39,0	45,6
Средний вес 30-дневного эмбриона . . .					48,4

Первый месяц постнатальной жизни характеризуется чрезвычайно интенсивным увеличением веса; к 5 дням вес новорожденного удваивается, к 12 вырастает в среднем еще на 50%, к началу 2-го месяца жизни еще утраивается. К 34 дням вес маленького кролика в 7—8 раз больше веса новорожденного. Индивидуальные колебания в пределах одного помета достигают, например, у однодневного кролика почти 100%, в разных пометах одного возраста — 40—120%.

Определение сухого вещества. Тканевая кашица высушивается в сушильном шкафу до постоянного веса при 103—105°.

Определение общего азота. Сухая навеска ткани (0,03—0,08 г) переводится из бюкса в колбочку Kjeldal из молибденового или пирекс-стекла с меткой на 25 см³ и сжигается с 3 см³ смеси серной и фосфорной кислот (3 части H₂SO₄ + 1 часть H₃PO₄), 0,2 см³ 6% CuSO₄ и 2—3 осколками кварца на специально приспособленной для массового сжигания электрической плитке. Так как приходилось исследовать одновременно много проб, то в поисках более быстрого метода мы применили прямую несселеризацию и колориметрию в фотоэлектроколориметре без предварительной дистилляции.

Прямая колориметрия азота применяется довольно широко. В последние годы, например, Cleghorn и Jendrassik использовали для прямого определения остаточного азота штупенфотометр; Rackallio и Pirila, усовершенствовав этот метод, добились хороших результатов (± 2 —3% ошибки). Мы предпочли более объективный, чем штупенфотометр, прибор — фотоэлектроколориметр. Наш прибор (фотоэлектроколориметр с селеновым фотоэлементом производства Института гигиены и охраны труда, со стрелочным гальванометром Физического института ЛГУ, 10 °A) давал наилучшие результаты при содержании 0,001—0,06 мг N—NH₃ в 10 см³ исследуемой жидкости. Более концентрированные растворы давали

Таблица 2. Вес кроликов в постнатальном периоде

№ исследова- ния	Возраст (в днях)	Вес в г	Среднее
8	1	61,0	60,0
3	1	49,6	49,6
11	1	35,7	35,7
VIII	1	93,3; 85,5; 67,5; 58,5; 55,0; 48,8	60,1
IX	1	58,5; 55,0; 48,8	54,1
Средний вес 1-дневного кролика . . .			51,9
1	2	76,0; 62,7; 54,5; 49,0	60,6
5	3	69,9	69,9
12	3	73,6	73,6
17-18	3	68,6; 44,6; 27,5	46,9
VI	3	62,8; 58,0	60,4
Средний вес 3-дневного кролика . . .			62,7
10	5	112,0	112,0
7	12	136,0	136,0
XI	12	210,0	210,0
XXVII	12	132; 129; 128; 124; 122; 112; 104	122,0
Средний вес 12-дневного кролика . . .			156,0
XIII	34	316,0	316,0
XXVI	34	620,0; 570,0; 570,0; 520,0	570,0
Средний вес 34-дневного кролика . . .			443,0

слишком мало ощутимые различия, для очень слабых окрасок чувствительность гальванометра оказалась недостаточной. Мы пользовались следующей техникой. Содержимое колбочки Kjeldal после окончания сжигания (6—12 часов) разводится бидистиллированной, освобожденной от CO_2 и NH_3 водой (перегонка в кварцевом сосуде с присоединенной системой водоструйного насоса и промывных склянок) до метки (25 cm^3). 5 cm^3 из этой колбы переносится в мерную колбочку на 100 cm^3 , слегка разводится водой, нейтрализуется по лакмусу (около 2 cm^3 40% NaOH) и доводится до метки. 5 или 2 cm^3 этой жидкости (разведение 1:500) доводится в широкой пробирке (приемнике) от прибора Pappas до 10 cm^3 бидистиллированной водой. Таким образом, конечное разведение = 1:1 000 или 1:2 500. Так же производится и «слепой» опыт. К каждой пробе последовательно с промежутками в 4—5 минут приливается по 1 cm^3 реактива Nessler (по Folin) и через 15 минут определяется интенсивность окраски в фотоэлектроколориметре. Сила фототока не всегда строго пропорциональна концентрации раствора, поэтому количество NH_3 , соответствующее отклонению стрелки гальванометра, находится по предварительно полученной для разных количеств стандартных растворов кривой.

Стандартные растворы. Основной раствор 2,358 г перекристаллизованного, высушенного до постоянного веса $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, растворяется в 500 cm^3 колбе в тридистиллированной, свободной от NH_3 и CO_2 , нейтральной воде. 1 cm^3 раствора равен 1 мг N— NH_3 . Рабочий раствор: 10 cm^3 основного раствора — доводится в литровой колбе водой до метки: 1 cm^3 = 0,01 мг N— NH_3 . Разные количества этого стандартного раствора (содержащие, например, от 0,005 до 0,07 мг N— NH_3) + 1 cm^3 n/10 HCl (или H_2SO_4) доводятся в приемнике Pappas до 10 cm^3 водой, прибавляется по 1 cm^3 реактива Nessler и через 15 минут производится измерение в фотоэлектроколориметре. Отклонения стрелки от конца шкалы наносятся на миллиметровую бумагу и вычерчивается кривая, которая время от времени (1—2 раза в месяц) и при каждой смене реактивов проверяется. Расчет: количество миллиграммов N— NH_3 , соответствующее возникшему в опыте току, находится на кривой; из него вычитается количество, найденное в «слепом» опыте (в наших исследованиях поправка была ничтожна). Полученное количество миллиграммов соответствует содержанию аммиака в 10 cm^3 , т. е. $\frac{1}{1000}$ или $\frac{1}{250}$ всей навески. Следовательно, содержание азота в миллиграмм-процентах (при разведении 1:1 000) равно:

(мг $N-NH_3$ опыта — мг $N-NH_3$ «слепого» опыта) $\frac{100}{навеска}$ 100,

а в грамм-процентах оно в 1000 раз меньше.

После сокращений $N-NH_3$ в грамм-процентах равно:

$\frac{мг\ N-NH_3\ опыта}{навеска} 10$

Если конечное разведение было 1:2500, то в числителе вместо 10 будет 25 и т. д.

Точность метода проверялась нами по навескам мочевины. Процент ошибки равен $\pm 1,5-2,5$.

Результаты опытов

Индивидуальные колебания в содержании общего азота и преформированного аммиака в органах эмбрионов и маленьких кроликов очень значительны. Даже в органах эмбрионов одного помета они достигают 9—12% (например, $N-NH_3$ легких 26-дневных эмбрионов из 1 рога матки равно 2,13 и 2,38 мг%). в разных пометах колебания могут до-

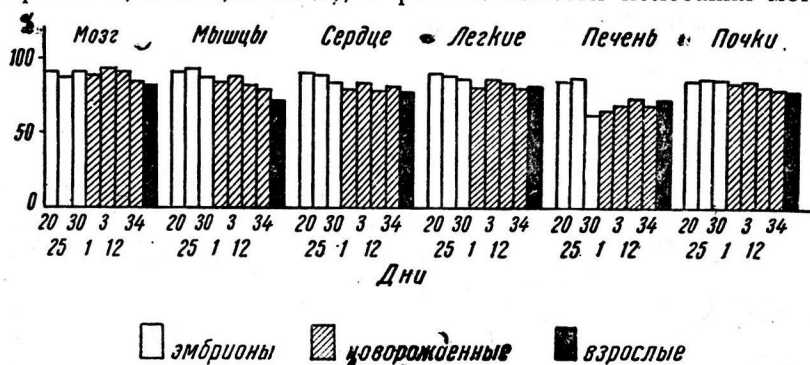


Рис. 1. Изменения в содержании воды в органах кролика в эмбриональном и постнатальном периодах

ходить до 50—100% и больше (для воды различия выражены гораздо слабее). Все же индивидуальные отклонения не помешали проявлению некоторых интересных закономерностей (сообщение II).

Ввиду обилия цифрового материала и трудности ориентироваться в нем данные представлены в виде диаграмм, отражающих среднее из двух или трех серий определений по каждому возрасту и органу.

Вода (рис. 1). Содержание тканевой воды во вторую половину эмбриональной жизни и в первый месяц внеутробной жизни постепенно падает. Обеднение водой совершается неравномерно, и не всегда более ранняя стадия богаче водой, чем последующая. Для всех исследованных органов, кроме печени, характерны небольшое падение влажности тканей к 1-му дню внеутробной жизни и некоторый последующий подъем к 3-му дню, что может быть связано с общим усилением обмена при переходе от внутриутробных условий существования к внеутробным (усиление движений, изменение условий питания и т. д.). На протяжении исследованного периода развития, т. е. от 20-го дня эмбриональной жизни до начала 2-го месяца постнатальной, наиболее богатым водой органом является мозг, наиболее бедным, особенно в конце эмбриональной и в 1-м месяце постнатальной жизни, — печень.

У взрослого животного наиболее богаты водой легкие, далее следуют мозг, сердце и почки, беднее всего печень и мышцы. У 20-дневного эмбриона распределение воды по органам несколько иное, в частности, мышцы чрезвычайно богаты водой (табл. 3). Постепенное обедне-

ние органов эмбриона водой едва ли может быть понято как рекапитуляция подобного явления в филогенезе; скорее высокое содержание воды в тканях эмбриона связано с усиленным его ростом (табл. 1).

Таблица 3. Распределение воды по органам у 20-дневного эмбриона и у взрослого кролика

	Мозг	Мышцы	Сердце	Легкие	Печень	Почки
Эмбрион 20 дней	89,9	89,1	88,5	87,3	82,9	83,5
Взрослый кролик	77,6	69,9	77,4	78,5	71,6	77,4
Уменьшение % содержания воды	12,3	19,2	11,1	8,8	11,3	6,1

Содержание воды в органах новорожденного кролика постепенно снижается в течение 1-го месяца жизни и к началу 2-го месяца уже приближается к содержанию его у взрослого животного. Только в мышцах большое различие в содержании воды у эмбриона и взрослого кролика не успевает так рано сгладиться (рис. 1).

Падение содержания воды в эмбриональном и постнатальном периодах описано многими авторами в разных органах: Koch, а также Koch и Mann — в мозгу свиньи, Fauré-Frémiet и Dragoiu — в легком ягненка, Rosenheim — в мозгу человека, Mendel и Leavenworth — в мозгу и печени свиньи, Grouzewska и Roussel —

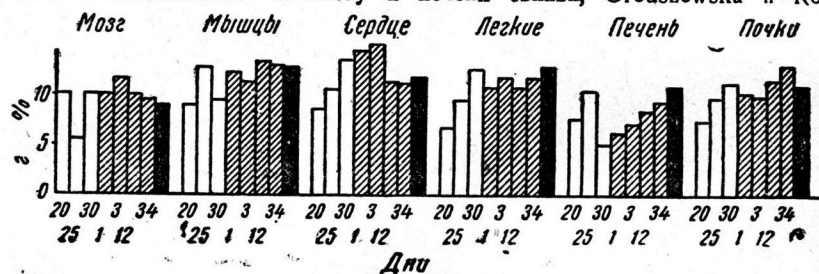


Рис. 2. Изменения в содержании общего азота в г% сухого вещества в органах кролика в эмбриональном и постнатальном периодах

в печени теленка, Schlossberger — в мозгу, сердце, печени, легких, мышцах и крови теленка, Fehling — в мышцах человеческого эмбриона, Jasubowitsch — в мышцах теленка, Buglia и Costantino — в мышцах эмбриона рогатого скота, Robinson — в мышцах собаки и голубя, Гефтер и Василькова — в мозгу кроликов, Асмолова — в мышцах кроликов, Палладин и Рашба — в мозгу кроликов и морских свинок и др.

Наш материал и подтверждает литературный, и пополняет его данными по распределению воды между органами животного на разных стадиях его развития.

Общий азот (рис. 2). Мозг 20-дневного эмбриона богаче азотом, чем мозг взрослого животного. Падение азота у 25-дневного эмбриона выравнивается к концу утробной жизни. В течение 1-го месяца постнатального периода, в соответствии с данными Палладина и Рашба, азот мозга несколько снижается, оставаясь все же на более высоком уровне, чем у взрослого животного. Данные Koch о постепенном падении белка в мозгу свиного эмбриона с возрастом и в мозгу крысы после рождения отчасти подтвердились на нашем материале: содержание азота в мозгу новорожденного кролика оказалось выше такового взрослого организма. Наши результаты не совпадают с данными Городисской и Дробсвой; эти авторы получили некоторое повышение азота в свежем веществе мозга человека в эмбриональном и постнатальном периодах, но нарастание очень незначительно и, может

быть, зависит от неучитывавшегося в данной работе уменьшения содержания воды. В неопубликованной работе Гефтер и Васильковой (цифры азота на влажный вес взяты нами из диссертации Асмоловой) пересчет на сухой вес дает падение азота в мозгу кроликов в постнатальном периоде, т. е. получается вывод, совпадающий с нашим.

В скелетных мышцах содержание общего азота по мере развития нарастает, но самый процесс нарастания совершается не столь равномерно, как в работе Асмоловой; однако при пересчете данных этого автора на сухой вес равномерность подъема тоже теряется в зависимости от колебаний в содержании воды. Подтверждается положение Buglia и Costantino о том, что процентное содержание азота в мышце эмбриона значительно ниже такового у взрослого животного.

Содержание общего азота в сердечной мышце к 20-му дню эмбриональной жизни ниже, чем у взрослого кролика. В последней трети ее и в первые дни постнатальной жизни оно отчетливо нарастает, довольно значительно превышая содержание его у взрослого; к 12-му дню постнатального периода и к началу 2-го месяца количество азота снижается, и уровни азота молодого и взрослого сердца сравниваются.

В легких, где уровень азота к 20-му дню эмбриональной жизни ниже, чем в других органах, к концу беременности, очевидно, идет накопление белка, что совпадает с данными Fauré-Frémiet и Dragoiu по легкому эмбриона овцы. В постнатальном периоде уровень азота приближается к таковому у взрослого животного.

В почках мы нашли постепенное, довольно равномерное увеличение содержания азота как в эмбриональном, так и в постнатальном периодах.

Наконец, в печени кролика, подобно Grouszewska и Roussel, работавшим с печенью телят, мы нашли некоторое падение азота во второй половине эмбрионального развития (подъем на 25-й день!). После рождения идет постепенное, довольно равномерное накопление азота, не достигающее еще к началу 2-го месяца уровня взрослого животного.

Таблица 4. Распределение общего азота по органам у 20-дневного эмбриона и у взрослого кролика

	Общий азот в г%					
	мозг	мышцы	сердце	легкие	печень	почки
Эмбрион 20 дней	9,8	8,6	8,5	6,5	7,8	7,5
Взрослый кролик	8,2	13,0	11,8	12,6	10,8	10,8
Увеличение (или уменьшение) количества азота	-1,6	+ 4,4	+ 3,3	+ 6,1	+ 3,0	+ 3,3

Из табл. 4 ясно, что содержание азота в исследованных тканях у эмбриона значительно отстает от содержания его у взрослого организма, и, следовательно, несмотря на значительные колебания, общая направленность процесса в сторону накопления тканевого белка в изучаемом отрезке онтогенеза очевидна. Мозг является исключением, так как в нем происходит скорее обеднение белком, может быть, как результат обогащения липоидами (цереброзиды и фосфатиды). Количество холестерина и насыщенных фосфатидов в мозгу новорожденного кролика увеличивается с возрастом (Ландо и Прейзер).

ЛИТЕРАТУРА

Асмолова, Дисс., 1935 (рукопись).—Владимирова, Физиол. журн. СССР, 25, 930, 1938.—Гефтер и Василькова, цит. по Асмоловой.—Городисская и Дробова, Физиол. журн. СССР, 18, 449, 1935.—Ландо и Прейзер, тезисы докл. на конфер. по сравн. биохимии, стр. 35, Киев, 1939.—Палладин и Рашба, Физиол. журн. СССР, 24, 265, 1938.—Розанова, Физиол. журн. СССР, 25, 416, 1938.—Северцов, Этюд по теории эволюции, 1922.—Buglia u. Costantino, цит. по Асмоловой и Needham J.—Cleghorn u. Jendrassik, Biochem. Ztschr., 274, 189, 1934.—Fauré-Fré miet et Dragoin, цит. по Grouszewska et Roussel и Needham J.—Fehling, цит. по Needham, J.—Grouszewska et Roussel, Journ. de physiol. et de pathol. génér., 35, 382, 1937.—Jacobowitsch, цит. по Needham, J.—Koch, цит. по Grouszewska et Roussel.—Koch u. Mann, цит. по Grouszewska et Roussel.—Koschtojanz u. Rjabinowskaja, Pflüg. Arch., 235, 416, 1935.—Mendel u. Leavenworth, цит. по Grouszewska et Roussel.—Needham J., Chem. embryology, Cambridge, 1931.—Preyer, Physiologie d. Embryo, 1885.—Rackallio u. Pirila, Duodecim (Helsinki), No. 4, 361, 1938.—Robinson, цит. по Асмоловой.—Rosenheim, цит. по Grouszewska et Roussel.—Schlossberger, цит. по Needham J.—Starkenstein, Физиолог. журн. СССР, 22, 593, 1937.

ÄNDERUNGEN DES GESAMT-STICKSTOFFS UND DES PRÄFORMIERTEN AMMONIAKS IN DEN ORGANEN DES KANINCHENS IN DER ONTOGENESE UND WÄHREND DER SCHWANGERSCHAFT

MITTEILUNG 1. WASSER UND GESAMT-STICKSTOFF IN GEHIRN, HERZ, LUNGE,
MUSKELN, LEBER UND NIEREN VON KANINCHEN IN DER EMBRYONALEN UND
POSTNATALEN PERIODE

H Heyman

Aus der Biologischen I. P. Pawlow-Station (Dir.:
Akademienmitglied L. A. Orbeli) und dem Biochemi-
schen Laboratorium (Vorst.: Prof. W. S. Ssadirow)
des I. P. Pawlow-Instituts f. Physiologie (Dir.:
Akademienmitglied L. A. Orbeli) der Akademie
der Wissenschaften der UdSSR

Die Fragestellung betrifft die Beziehungen zwischen Form und Funktion, insbesondere die Zusammenhänge zwischen der individuellen Entwicklung des Säugetiers und gewissen Änderungen im Stickstoffumsatz seiner Gewebe und Organe.

Bestimmt wurden Wassergehalt und Gesamt-Stickstoff (Veraschung nach Kjeldahl, Nesslerisierung und Photoelektrokolorimetrie, Berechnung auf Trockengewicht) in den Geweben von Kaninchen-Embryonen im Alter von 20, 25 und 30 Tagen, und von neugeborenen Kaninchen im Alter von 1, 3, 12 und 34 Tagen. Als Kontrolle dienten die Organe des erwachsenen nichtträchtigen Tieres. Der Wassergehalt der Gewebe sinkt mit dem Alter allmählich, aber nicht gleichmässig (besonders in der Leber). Die Organe des 20-tägigen Embryos sind um 6—19% (je nach dem Organ) wasserreicher als die Gewebe des erwachsenen Organismus. Der Gesamtstickstoff des Gehirns erfährt mit fortschreitendem Alter eine gewisse Abnahme; in den Muskeln zeigt er eine ungleichmässige Zunahme, im Herzmuskel steigt er zuerst an, gleicht sich aber um den 12. Tag des postnatalen Lebens mit dem Stickstoffgehalt des erwachsenen Herzens aus. In Lungen und Nieren steigt der Stickstoff an, in der Leber fanden wir eine geringe Abnahme des Stickstoffs gegen Ende der Embryonalperiode und eine Anhäufung während des ersten Monats des postnatalen Lebens. Der Stickstoffgehalt der Gewebe des 20-tägigen Embryos (mit Ausnahme des Gehirns) ist geringer als der Stickstoffgehalt in den Geweben des erwachsenen Kaninchens.

ИЗМЕНЕНИЯ ОБЩЕГО АЗОТА И ПРЕФОРМИРОВАННОГО АММИАКА В ОРГАНАХ КРОЛИКА В ОНТОГЕНЕЗЕ И ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

СООБЩЕНИЕ II. ПРЕФОРМИРОВАННЫЙ АММИАК И ОТНОШЕНИЕ $\frac{N-NH_2}{\text{общ. N}}$ В МОЗГУ, СЕРДЦЕ, ЛЕГКИХ, МЫШЦАХ, ПЕЧЕНИ И В ПОЧКАХ КРОЛИКА В ЭМБРИОНАЛЬНОМ И РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ ПЕРИОДАХ

Е. Я. Гейман

Из Биостанции им. акад. И. П. Павлова (дир.— акад. Л. А. Орбели) и биохимической лаборатории (зав.—проф. В. С. Садилов) Физиологического института им. акад. И. П. Павлова (дир.—акад. Л. А. Орбели) Академии наук СССР

Поступила в редакцию 16.III.1939 г.

Описанные в предыдущем сообщении изменения влажности и содержания общего азота органов и тканей в онтогенезе несколько дополняют, как нам кажется, литературный материал по этому вопросу. Но еще более интересным нам представляется изучение почти незатронутого в литературе вопроса о так называемом преформированном аммиаке органов в онтогенезе и о времени его появления и динамике его изменений в процессе развития¹. Изучение этого вопроса диктуется прежде всего исключительным многообразием обменных реакций, связанных с образованием аммиака и с образованием новых веществ при участии аммиака, как, например, распад и синтез¹ аминокислот, мочевинообразование, обмен нуклеопротеидов. Аммиак играет важную роль в мышечном сокращении, в регуляции кислотно-щелочного равновесия, повидимому, и в нервной деятельности. Он обнаружен в тканях и биологических жидкостях как высших, так и низших животных, найден во всех классах беспозвоночных (Delaunay, Souterbicq, Гейман и др.) и является у большинства последних и у костистых рыб преимущественным продуктом азотистого метаболизма.

Содержание преобразованного аммиака нами изучалось на тех же животных, что азот и вода, т. е. на органах эмбрионов кролика в возрасте 20, 25 и 30 дней и на новорожденных кроликах 1, 3, 12 и 34 дней. Расчет велся на сухое вещество. Вычислялось также процентное отношение азота преобразованного аммиака, отображающего некоторые моменты ана- и катаболизма тканей, к структурному элементу — общему азоту.

Методика

Проба (0,5—0,7 г) из нескольких замороженных и растертых под жидким кислородом одноименных органов эмбриона или маленького кролика (сообщение I) переносилась в предварительно взвешенную съемную колбочку аппарата Parnas в 7 см³ насыщенного раствора буры. Очень быстро производилось вторичное взвешивание, колбочка немедленно присоединялась к аппарату и включалась вся система дистилляции аммиака в вакууме в аппарате Parnas-Heller. После отгонки до метки 10 см³ (аммиак улавливался 1 см³ n/10 HCl) приемник сменялся и отгонка до метки повторялась. Предварительной (до опыта) и последовательной (после опыта) повторной перегонкой в вакууме мы убеждались в

¹ Термин «преформированный» ограничивает преобразованный к моменту опыта физиологический аммиак тканей от аммиака, отщепляющегося в результате последующих ферментативных, аутолитических процессов, травматизации тканей и т. д.

чистоте прибора. Контроль и техника работы прежние (Гейман), но для получения свободной от CO_2 и NH_3 aquae tridestillatae мы пользовались исключительно кварцевым прибором по типу, описанному в руководстве проф. Садикова, и присоединяли к нему нашу систему водоструйного насоса и промывных склянок. К отогнанной жидкости приливался 1 см³ реактива Nessler (по Folin) и содержание аммиака определялось в фотоэлектроколориметре. Для расчета мы пользовались той же кривой, что и для расчета общего азота; $\text{N}-\text{NH}_3$ в миллиграмм-процентах влажного вещества равняется:

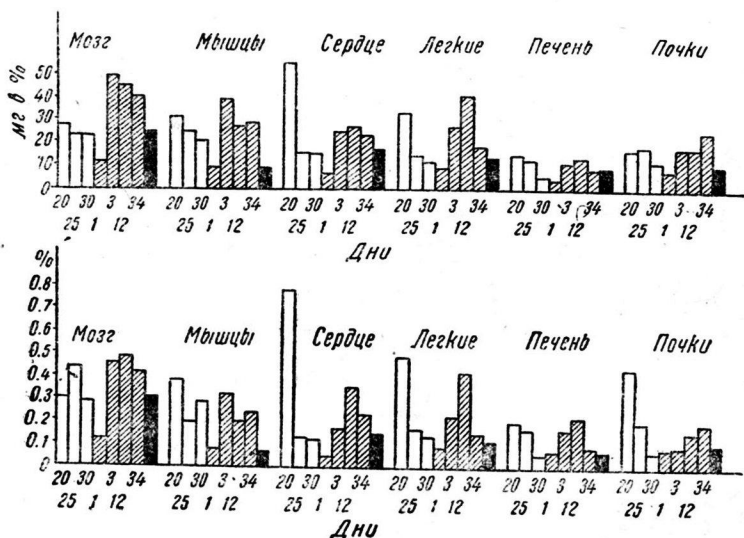
$$\frac{\text{Сумма мг } \text{N}-\text{NH}_3 \text{ первого и последующих отгонов} \cdot 100}{\text{навеска}}$$

Содержание $\text{N}-\text{NH}_3$ пересчитывалось на сухое вещество, так как содержание воды в органах в процессе развития меняется (сообщение I) и расчеты на влажное вещество могут совершенно исказить действительную направленность процесса. Определялось отношение

$$\frac{\text{N}-\text{NH}_3}{\text{общ. N}}$$

Результаты опытов (см. рисунок)

Мозг. К 20-му дню эмбриональной жизни в мозгу кролика обнаружен преформированный аммиак в количестве, превышающем содер-



Изменения в содержании преформированного аммиака [в мг% $\text{N}-\text{NH}_3$ сухого вещества (вверху)] и в отношении азота аммиака к общему азоту $\left[\frac{\text{N}-\text{NH}_3}{\text{общ. N}} \text{ в \% (внизу)} \right]$ в органах кролика в эмбриональном и постнатальном периодах. (Условные обозначения см. стр. 661)

жание его в мозгу взрослого животного. Оно резко падает к моменту рождения (1-й день), но уже к 3-му дню постнатальной жизни нарастает, значительно превышая эмбриональный уровень, что может зависеть от повышения активности центральной нервной системы (а следовательно, и протеолиза и обмена нуклеопротеидов) у новорожденного. Постепенно падая в течение 1-го месяца, содержание аммиака к началу 2-го все же еще остается значительно выше взрослого уровня.

Содержание преформированного аммиака в мозгу млекопитающих, по разным авторам, колеблется от 0,3 до 5,5 мг%. Владимирова нашла, что замена обычно применяемой для прекращения спонтанного отщепления аммиака буры ($\text{pH}=9,2-9,3$) 1,5% серной или соляной кислотой резко снижает определяемое

в мозгу мышей количество аммиака, не влияя на результаты определения аммиака в мышце. Мы проверили это наблюдение на своем материале: оно подтвердилось, хотя и в меньшей, чем у Владимировой, степени (абсолютные цифры аммиака в мозгу и при обработке кислотой у нас значительно выше цифр этого автора, скорее приближаясь к цифрам Файншмидт и Page). Те же отношения мы обнаружили и в печени, что наводит на мысль о существовании дополнительных одноклассных источников аммиака в мозгу и печени [считается, что бура подавляет отщепление аммиака преимущественно от адениловой кислоты (Polonovski)]. В остальных исследованных нами органах характер обработки (бура или кислота) не влиял на конечные результаты.

В условиях наших опытов отщепление аммиака при обработке бурой мозга и печени быстро прекращается. Поэтому и после появления в печати работы Владимировой (конец 1938 г.) мы сохранили обработку ткани бурой, учитывая некоторую условность в отношении мозга и печени определения «преформированный аммиак», понимая его в приложении именно к данному методу обработки. Правильность такого суждения подтверждается однотипностью возрастных изменений в содержании аммиака во всех исследованных органах, в том числе и таких, где способ обработки не оказывает влияния на результаты.

Отношение $\frac{N-NH_3}{N}$ у 20-дневного эмбриона близко к уровню его

в мозгу взрослого животного, а к 25-му дню дает подъем; в остальном характер возрастных изменений тот же, что и в содержании аммиака. Мозговая ткань эмбриона и маленького кролика продуцирует аммиак еще более интенсивно, чем мозговая ткань взрослого животного, и размеры продукции связаны с периодом развития¹ (рис. 1, внизу).

Мышца. Содержание $N-NH_3$ к 20-му дню эмбриональной жизни сравнительно велико, оно обнаруживает снижение к рождению, подъем на 3-й день после рождения и постепенный спуск в течение 1-го месяца. Разность уровней между 20-дневным эмбрионом и взрослым животным и между месячным и взрослым кроликом выражена резко, чем в мозгу. $\frac{N-NH_3}{N}$ изменяется в том же направлении.

Аммиак, полученный после полного гидролиза мышцы, сохраняет в течение эмбрионального периода постоянство (Buglia и Constantino, цит. по Needham) или обнаруживает наклонность к нарастанию (Асмолова). Борисов нашел увеличение общего (преформированный + травматический) аммиака в постнатальном периоде с возрастом. Эти данные не могут быть сопоставляемы с нашими исследованиями, предмет которых является преформированный аммиак.

Коштыя и Рябиновская нашли, что креатинфосфат в мышцах эмбриона кролика появляется не ранее 22—23-го дня. Между тем активные сокращения при раздражении, точно так же как и спонтанные движения эмбриона в матке, наблюдаются и в более раннем возрасте. Авторы высказали предположение о существовании в мышцах эмбрионов других фосфагенов. Действительно, Фердман (цит. по Палладину) обнаружил адениловую кислоту в эмбриональных мышцах на самых ранних стадиях развития. В мышцах новорожденных найдено очень мало креатинфосфата и довольно много аденозинтрифосфата и свободной адениловой кислоты (Эпштейн, цит. по Палладину). Содержание фосфагена закономерно возрастает после рождения (Багдасарьянц и Ясиновская). Обнаружение значительных количеств преформированного аммиака в эмбриональной и ранней постнатальной мышцах можно рассматривать как показатель выпадения (или ослабления) защитной роли креатинфосфата, являющегося во взрослых мышцах, согласно взглядам школы Rapaport, резервным источником фосфора для адениловой кислоты. Интенсив-

¹ Мозг 20—25-дневного эмбриона и 1—3-дневного кролика давал в вакууме чрезвычайно сильное вспенивание, чего не наблюдалось на более взрослом органе; это наблюдение говорит о физико-химических особенностях эмбриональной и ранней постнатальной мозговой ткани.

ное дезаминирование в мышцах эмбрионов и новорожденных кроликов служит, повидимому, выражением неполноты реституции аденозинтрифосфата.

Сердце. Сердце в эмбриональном и постнатальном периодах существенно отличается от сердца взрослого животного и от скелетной мышцы.

Переход к внеутробным условиям существования предъявляет к сердцу особенно большие требования. Происходит в связи с появлением легочного дыхания смена эмбрионального типа кровообращения на внеутробный, сопровождающаяся облитерацией артериального канала между легочной артерией и аортой и зарастанием боталлова протока.

Мы нашли исключительно высокий уровень преформированного аммиака в сердечной мышце 20-дневного эмбриона (в несколько раз больше, чем у взрослого), резкое падение к 25-му дню и еще большее к 1-му дню после рождения, новый подъем к 3-му и особенно к 12-му дню и начинающееся выравнивание с уровнем взрослого сердца к началу 2-го месяца. Ту же картину, еще более резко выраженную, дает $\frac{N-NH_3}{N}$ (рис. 1).

Таким образом, общий характер изменений $N-NH_3$ в исследованном периоде онтогенеза повторяется и в сердечной мышце. Переход к внеутробному существованию сказывается особенно резко. Исключительно высокий уровень аммиогенеза эмбрионального сердца сравнительно со скелетной мышцей зависит, вероятно, от большей интенсивности работы сердца. Может быть, значение имеют возможность отщепления аммиака в сердце непосредственно от аденилнуклеотида (Polorovski) и иной характер самого нуклеотида — аденозинпентафосфат (Ostern) или наличие дополнительных источников аммиака.

Легкие. Binet и Burstein нашли, что перфузия пептонизированной крови через изолированное легкое лишает ее способности снижать кровяное давление. Binet и Bargeton наблюдали образование аммиака легкими из полипептидов, глицилглицина, глицина и аланина. Таким образом, участие легких в азотистом обмене очевидно доказано.

В наших опытах на легких мы нашли тот же характер изменений, что и в других органах: богатство ткани аммиаком к 20-му дню эмбриональной жизни, уменьшение к 1-му дню после рождения, подъем к 3-му и особенно к 12-му дню, снижение и приближение ко взрослому уровню к началу 2-го месяца.

Печень. Эмбриональная печень непосредственно принимает в себя пупочную кровь, и на ней, следовательно, раньше и легче всего могут сказываться влияния со стороны матери. Размеры ее относительно очень велики, а содержание воды сравнительно с другими органами мало (общение I).

В печени, при сохранении общего другим тканям направления процесса аммиогенеза, общий уровень аммиака на всем протяжении исследованного отрезка индивидуального развития много ниже, чем в других органах. Возможно, что в печени, где преимущественным источником NH_3 являются аминокислоты, сказывается влияние параллельно идущих, но обратных направленных процессов, как мочевинообразование и синтез аминокислот. Кроме того, изменения могут несколько маскироваться влияниями со стороны матери.

Возможно также, что отклонения аммиогенеза в печени связаны с особенностями строения белков этого органа. Садиков установил, что около 50% азота печени приходится на долю особых щелочнорезистент-

ных белков, в состав которых входят высокомолекулярные аминокислоты с значительным количеством аминогрупп.

Поскольку преформированный аммиак в печени происходит преимущественно из аминокислот и лишь отчасти из нуклеопротеидов, обнаружение значительных количеств его говорит об интенсивности эмбрионального тканевого обмена белков.

Почки. Почки эмбрионов к концу утробного развития способны к функции, но едва ли почечная экскреция может играть значительную роль, поскольку удаление продуктов обмена обеспечено циркуляцией материнской крови.

Аммионогенная функция доказана исследованиями Nasch и Benedict (цит. по Schneller). По Krebs, почка, наряду с печенью, является одним из главных мест окислительного дезаминирования аминокислот. По Embden (цит. по Schneller), часть NH_3 почки происходит из адениловой кислоты.

В наших исследованиях мы получили несколько более высокий средний уровень преформированного $\text{N}-\text{NH}_3$ в почках, чем в печени, что говорит в пользу теории Nasch и Benedict и против взглядов, считающих, что аммиак почки есть исключительно аммиак дезаминированных печенью аминокислот.

Общая всем исследованным органам направленность процесса — высокий уровень аммиака на 20-й день эмбриональной жизни, спуск к рождению, подъем к 3—12-му дню — и тут ясно выражена как для количества преформированного $\text{N}-\text{NH}_3$, так и для отношения $\frac{\text{N}-\text{NH}_3}{\text{общ. N}}$.

Итак, несмотря на индивидуальные колебания и различия в производстве преформированного аммиака в разных органах и тканях, установлено:

1. Мозг, мышцы, сердце, легкие, печень и почки эмбриона кролика 20 и более дней (а также ткани 15-дневного эмбриона, взятые в совокупности), новорожденного кролика 1-го месяца жизни и взрослого животного содержат преформированный аммиак в значительных количествах.

2. Органы и ткани 20-дневного эмбриона значительно богаче взрослых тканей преформированным аммиаком (см. табл.).

Распределение преформированного $\text{N}-\text{NH}_3$ по органам ту 20-дневного эмбриона и у взрослого кролика

$\text{N}-\text{NH}_3$ в мг% сухого вещества						
	мозг	мышцы	сердце	легкие	печень	почки
Эмбрион 20 дней	28,05	31,74	55,69	32,93	14,92	17,83
Взрослый кролик	24,59	8,66	16,53	13,39	8,8	10,66
Уменьшение содержания $\text{N}-\text{NH}_3$. .	3,46	23,08	39,16	19,54	6,12	7,17

3. Переход от пренатального к постнатальному существованию резко отражается на количестве аммиака, или снижая аммионогенез, или повышая интенсивность процессов, связанных с потреблением аммиака.

4. Органы новорожденного животного в течение первых дней жизни дают новый подъем аммионогенеза, иногда уже на 3-й день жизни. Для некоторых органов максимум этого подъема задерживается на не-

сколько дней (сердце, легкие, печень, почки). Вслед за подъемом намечается некоторое снижение. Для большинства исследованных органов (кроме печени) содержание аммиака в органах в начале 2-го месяца еще значительно выше содержания его во взрослом организме.

Ткани кролика, по крайней мере с 15-го дня эмбриональной жизни, продуцируют аммиак; количественное изучение аммиониогенеза на разных стадиях индивидуального развития позволяет делать некоторые заключения о характере функционирования органов в эмбриональный и ранний постнатальный периоды (например, мышц).

Обсуждение результатов

Попытка разобраться в экспериментальном материале приводит к построению некоторых рабочих гипотез, которые требуют экспериментальной проверки и не могут рассматриваться как окончательные выводы.

От каких причин могут зависеть особенности аммиониогенеза в индивидуальном развитии?

Прежде всего можно было бы приписать усиление аммиониогенеза в эмбриональном и раннем постнатальном периодах общему усилению обмена растущего организма. Установлено, что теплопродукция новорожденного животного сравнительно с более взрослым организмом повышена пропорционально относительно большей поверхности тела. Что касается эмбрионов, то прямых экспериментальных данных по их теплообразованию нет. Едва ли возможно распространить закон Rubner в полной мере на эмбриона, так как последний хотя и имеет большую поверхность, но находится в исключительно благоприятных в смысле питания, температуры, среды и т. д. условиях и очень мало подвижен. Вместе с тем интенсивность роста эмбриона исключительно велика и требует большого расхода энергии. Поэтому, если обмен эмбриона и не во столько раз превышает материнский, как это следовало бы из закона Rubner, он все же, вероятно, несколько больше его. Едва ли это может полностью объяснить полученные нами результаты. Возможно, что в данном случае имеет значение недостаточность мочевинообразования у эмбрионов.

Об особенностях тканевых белков и нуклеопротеидов в онтогенезе известно очень мало. Поэтому можно только чрезвычайно осторожно строить предположения для объяснения закономерно совершающихся на нашем материале изменений преформированного $N-NH_3$.

Источниками аммиака в органах считаются преимущественно или аминокислоты [например, печень, почки (Krebs, Oberdisse и Eckardt)], или аденилнуклеотиды и продукты их распада [например, мышцы, сердце, мозг (Parnas, Ostern и Mann; Mozolowsky, Riebeling; Schneller; Schwarz и Dibold)].

Высокое содержание аргинина в эмбриональном и постнатальном мозгу (Тустановский) может способствовать накоплению в нем аммиака.

Однако возможны и иные, кроме аминокислот и нуклеопротеидов, источники тканевого аммиака — амиды. Выделение аспарагина (Damo-daran) и глутамина (Damo-daran, Jaaback и Chibnall) из продуктов энзимного переваривания белка доказало присутствие амидных групп в белковой молекуле. Krebs наблюдал образование аммиака из глутамина. В амидах, как известно, сравнительно легко происходит разрыв $C-N$ -связи (Sidgwick). Весьма вероятно, что катепсин тканей, подобно папаину (Damo-daran и Ananta-Narayanan), обладает деамидазной активностью, которая в тканях эмбриона и новорожденного повышена. Может быть, белок этих тканей богаче аспарагиновой и глутаминовой кислотами [чего, впрочем, в мозгу не обнаружено (Тустановский)] и их

амидами или более лабильными пептидными связями. Это тем более вероятно, что аспарагиновая кислота в эволюционном ряду встречается чрезвычайно рано. Относительное уменьшение свободных аминогрупп в мышцах в эмбриональном и постнатальном периодах с возрастом, установленное Асмоловой, трактуется автором как показатель усиления циклизации аминокислот или их связывания в полипептиды, что, очевидно, должно затруднять аммиониогенез и вести к снижению количества преформированного аммиака.

Есть данные предполагать, что образование аммиака из нуклеопро-теидов идет у эмбрионов и молодых животных иначе, чем у взрослых: химическая структура адениловой кислоты их мышц отлична от таковой мышц взрослых животных (Фердман, цит. по Ковальскому). Высокая активность ферментов эмбрионов млекопитающих и возрастание ее после рождения, наряду с инертностью эмбриональной почки, может способствовать накоплению аммиака в тканях.

В заключение мы считаем возможным и необходимым рассмотреть наши данные под углом зрения соотношения онто- и филогенеза.

Установлено, что большинство беспозвоночных и некоторые низшие позвоночные (костистые рыбы) выделяют в качестве главного продукта азотистого обмена аммиак, в то время как большинству позвоночных свойствен уреотелический тип метаболизма, а рептилиям и птицам, *Gastropulmonata* и насекомым — урикотелический. Аммиак является инициальным, наименее расточительным азотистым отходом; так как молекулярный вес его ниже молекулярного веса мочевины и мочевой кислоты, он не содержит углерода и обладает наименьшей теплотой сгорания и наибольшей способностью к диффузии. Но если условия жизни вида животного не обеспечивают беспрепятственного удаления аммиака из организма, то накопление токсического продукта могло бы стать вредным, и у данного вида животных вырабатывается способность обрабатывать аммиак в мочевины или выводить азот в форме мочевой кислоты (Delaunay).

Needham высказал и обосновал теорию, согласно которой тип азотистой экскреции определяется условиями не взрослого, а эмбрионального существования. Форма выделения азота взрослым животным зависит от образа жизни эмбриона. Животное может постоянно жить в море, но если его яйца кладутся и развиваются на суше, то главным продуктом азотистого обмена его в течение всей жизни будет мочевая кислота — продукт, наиболее расточительный, но наименее растворимый и диффузibelный, что чрезвычайно важно в условиях развития замкнутой единицы — яйца («closed box»).

Ткани морских беспозвоночных, как показало высокое содержание преформированного аммиака в них, в биологических жидкостях продуцируют много аммиака (Souterbicq, Гейман). Настоящее исследование показало, что ткани и органы эмбрионов млекопитающих тоже богаты аммиаком. Но млекопитающие с эмбриохимической точки зрения являются «водными» животными, так как беспрепятственное и непрерывное выделение продуктов обмена через плаценту аналогично выделению их в воду морскими формами. Мы считаем возможным рассматривать наблюдавшееся нами высокое содержание преформированного аммиака во всех исследованных эмбриональных органах и постепенное спадение его в процессе развития как явление химической рекапитуляции, т. е. повторение филогенеза в онтогенезе (подобно открытой Needham в развитии куриного эмбриона последовательной смене образования NH_3 , мочевины и мочевой кислоты).

Точно так же, как индивидуальный морфогенез в значительной степени является отображением и повторением пройденных предками эта-

лов, так и химические процессы в онтогенезе могут, временно проявляясь, отражать химизм филогенетических различий. В нашем случае высокий уровень эмбрионального тканевого аммиака в «водном» эмбриональном периоде развития млекопитающего может отображать подобные же соотношения у далеких предков — морских беспозвоночных. Повторение это, разумеется, не является механическим, а проявляется в новой форме. Этого и следовало ожидать, так как индивидуальное развитие связано с множеством морфологических и функциональных изменений, которые не могут не оказывать своего влияния. Эволюция есть процесс диалектический и, как учит Ленин (Сочинения, т. XVIII, стр. 11—12), развитие, как бы повторяя пройденные ступени, повторяет их иначе, на более высокой базе («отрицание отрицания»), как бы по спирали, под влиянием внутренних импульсов, даваемых противоречием, столкновением различных сил и тенденций, действующих на данное тело.

Высокий уровень аммиака тканей эмбриона является, очевидно, эмбриоадаптацией, т. е. приспособлением к специальным условиям внутриутробного существования, близким к условиям жизни взрослых предков.

Момент рождения, перехода к внеутробной жизни, связан с колоссальной перестройкой организма и сопровождается в наших опытах падением содержания преобразованного аммиака в органах. В дальнейшем оно опять нарастает, хотя образ жизни уже изменился. Все же кролик в «грудной» (до месяца) период своего развития является, если можно так выразиться, более «водным» животным, чем в последующее время, так как пропускает через свой организм относительно гораздо больше жидкости. С прекращением периода грудного вскармливания условия питания резко меняются. Деятельность почки может быть затруднена накоплением токсического щелочного продукта, требующего для своего выведения значительного расходования ценных кислот на нейтрализацию аммиака.

Вероятно, в связи с этим к этому времени в организме усиливаются синтетические процессы, связанные с потреблением аммиака¹ (например, мочевинообразование² и др.). Все это может служить причиной постепенного падения количества тканевого аммиака в конце 1-го месяца постнатального периода.

Все попытки объяснить тенденцию к закономерным во всех исследованных органах возрастным изменениям аммиака являются, как уже было сказано, только рабочими гипотезами, построенными на основе экспериментального материала и литературных данных и связанными с общебиологической и эмбриохимической концепциями.

ЛИТЕРАТУРА

Асмолова, дисс., 1935 (рукопись).—Багдасарьянц и Ясиновская, Тезисы докл. на конфер. по сравн. биохимии, стр. 36, Киев, 1939.—Владимирова, Физиолог. журн. СССР, 24, № 5, 915, 1938; 25, № 6, 930, 1938.—Гайман, Физиолог. журн. СССР, 20, 846, 1936; 26, 110, 1939; 18, 804, 1935.—Ковальский, Эксп. мед., № 8, 21, 1937.—Палладин, Физиолог. журн. СССР, 18, № 4—5, 1937.—Садиков, Белковый практикум, стр. 284, 1934.—Толкачевская и Лукомская, Тезисы докл. на конфер. по сравн. биохимии, стр. 45, Киев, 1939.—Тустановский, Биохимия, III, № 2, 218, 1938.—Файншмидт, Биохимия, I, 450, 1936.—Binet et Birstein, C.-r. Soc. biol., 125, 120, 1937.—Binet et Bargeton, Presse médic., I, 57.

¹ Это, конечно, требует еще экспериментальной проверки.

² Толкачевская и Лукомская нашли у детей первого полугодия жизни снижение содержания аммиака и нарастание мочевины в моче.

1937.—Damodaran, Bioch. Journ. 26, 235, 1932.—Damodaran, Jaaback a. Chibnall, Bioch. Journ., 26, 1704, 1932.—Damodaran a. Ananta-Narayanan, Bioch. Journ., 32, 1877, 1938.—Delaunay, Ann. de physiol. et de physicoch. biol., 10, 694, 1934.—Emlden, цит. по Florkin et Frappez.—Krebs, Biochem. Journ., 29, 1951, 1935.—Koschtolanz u. Rjabinowskaja, Pflüg. Arch., 235, 416, 1935.—Mozolowsky, Biochem. Zschr., 206, 150, 1929.—Nasch u. Benedict, цит. по Schneller.—Needham J., Chemical embryology, Cambridge, 1931.—Oberdisse u. Eckardt, Arch. exp. Path. u. Pharm., 184, 109, 1937.—Ostern, Усп. биол. хим., 1936.—Page, The chemistry of the brain, London, 1937.—Polonowski, Ann. de physiol. et d. physicoch. biol., 10, 4, 1934.—Preyer, Physiologie des Embryo, 1885.—Riebeling, Klin. Wschr., 13, 1422, 1934.—Schneller, Ergebn. d. Physiol., 37, 492, 1935.—Schwarz u. Dibold, Bioch. Ztschr., 251, 110, 1932.—Sidgwick, The organic chemistry of nitrogen, 1937.—Souterbick, C. r. Soc. biol., 120, 53, 1935.—Vignes, Traité de physiologie norm. et pathol., XI, 210, 1934.

ÄNDERUNGEN DES GESAMT-STICKSTOFFS UND DES PRÄFORMIERTEN AMMONIAKS IN DEN ORGANEN DES KANINCHENS IN DER ONTOGENESE UND WÄHREND DER SCHWANGERSCHAFT

MITTEILUNG 2. PRÄFORMIERTES AMMONIAK UND DAS VERHÄLTNIS

$\frac{N-NH_3}{\text{GESAMT-N}}$ IN GEHIRN, HERZ, LUNGE, MUSKELN, LEBER, UND NIEREN DES
KANINCHENS IN DER EMBRYONALEN UND FRÜHEN POSTNATALEN PERIODE

H. Heyman

Aus der Biologischen I. P. Pawlow-Station (Dir.:
Akademienmitglied L. A. Orbeli) und dem Biochemischen
Laboratorium (Vorst.: Prof. W. S. Ssadirow)
des I. P. Pawlow-Instituts f. Physiologie (Dir.:
Akademienmitglied L. A. Orbeli) der Akademie der
Wissenschaften der UdSSR

Die Organe und Gewebe des 20-tägigen Embryos enthalten viel mehr präformierten Ammoniaks als die erwachsenen Gewebe. Der Übergang von der pränatalen zu der postnatalen Lebensweise geht einher mit einer starken Abnahme des Ammoniakgehalts, entweder infolge Verminderung der Ammoniogenese oder infolge zunehmender Intensität von Vorgängen, die mit dem Verbrauch von Ammoniak verknüpft sind. Während der ersten Lebenstage erfolgt ein erneuter Anstieg des Gewebammoniaks, auf den von neuem eine gewisse Abnahme folgt.

Ungeachtet der bedeutenden individuellen Abweichungen lässt sich der für alle Organe gemeinsame Charakter der altersbedingten Veränderungen deutlich erkennen: hohe Werte des Ammoniakgehalts und des Verhältnisses $\frac{\text{Ammoniak-N}}{\text{Gesamt-N}}$ am 20. Tag des embryonalen Lebens, Abnahme um den Zeitpunkt der Geburt, Anstieg gegen den 3—12. Tag des postnatalen Lebens, und bei einigen Organen später erneute Abnahme (Abb. 1. u. 2.).

Gehirn, Muskeln, Herz, Lungen, Leber und Nieren von Kaninchen-Embryonen im Alter von 15, 20 Tagen oder mehr (sowie die gesamten Gewebe des 15-tägigen Embryos), von neugeborenen Kaninchen während des ersten Lebensmonats und von erwachsenen Tieren enthalten präformiertes Ammoniak in erheblichen Mengen.

ИЗМЕНЕНИЯ ОБЩЕГО АЗОТА И ПРЕФОРМИРОВАННОГО АММИАКА В ОРГАНАХ КРОЛИКА В ОНТОГЕНЕЗЕ И ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

СООБЩЕНИЕ III. ОБЩИЙ АЗОТ, ПРЕФОРМИРОВАННЫЙ АММИАК
И ОТНОШЕНИЕ $\frac{N-NH_3 \text{ преформированный}}{N \text{ общий}}$ В ОРГАНАХ КРОЛИКА ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

Е. Я. Гейман

Из Биостанции им. акад. И. П. Павлова (дир.—акад. Л. А. Орбели) и биохимической лаборатории (зав.—проф. В. С. Садилов) Физиологического института им. акад. И. П. Павлова (дир.—акад. Л. А. Орбели) Академии наук СССР

Поступила в редакцию 16.III 1939 г.

Задачей работы было: 1) проследить за изменениями в содержании воды, общего азота и преформированного аммиака в тканях самки кролика на протяжении беременности; 2) сопоставить изменения этих факторов у беременной самки и плода и проверить, в какой степени совпадают или расходятся изменения у столь тесно биологически связанных объектов. Для изучения хода изменений в процессе беременности мы исследовали органы самок в разные сроки — 15, 20, 25 и 30 дней (по две серии опытов). Контролем служили органы взрослых небеременных самок (3 серии).

Методика работы была прежняя (сообщение I). Часть органа фиксируется в жидком кислороде, другая порция высушивается до постоянного веса при 103—105°. Общий азот определяется непосредственной (без дистилляции) после сжигания нesslerизацией и фотоэлектроколориметрией, преформированный аммиак — растиранием в жидком кислороде, дистилляцией в аппарате Parnas-Heller и фотоэлектроколориметрией с реактивом Nessler.

Вода. Мозг беременной самки кролика по содержанию воды почти не отличается от мозга небеременного животного, за исключением 20-го дня, когда он оказался богаче водой. Содержание воды в других органах при беременности либо равно содержанию ее в контрольных, либо превышает его (за исключением 30-го дня для печени и 15-го дня для почек, когда органы беременной самки несколько беднее водой). Мышцы беременного животного значительно богаче водой, чем мышцы контрольного. Печень беднее других органов водой. Содержание воды в органах беременной самки колеблется; вероятно, это связано с перераспределением воды между матерью и плодами. Все же можно считать, что содержание тканевой воды в органах беременного животного выше, чем у небеременного, и сопоставить это с общим повышением обменных процессов при беременности (Vignes).

Содержание воды в органах беременного животного значительно меньше, чем в органах его эмбрионов (это видно из индивидуального сопоставления данных по органам матери и плодов, табл.). Изменения в обоих объектах не протекают параллельно. К концу беременности, по мере обеднения водой тканей эмбрионов, различия сглаживаются, и на 30-й день печень плода оказывается даже плотнее печени матери. Это сравнение уровней продолжается и после рождения, причем печень месячного кролика содержит воды меньше, чем печень матери.

Мать и эмбрионы

№ опыта	Возраст в днях	О б ъ е к т	В о д а						С у х о й в е с с						Азот общий в г% сухого вещества			
			мозг	мышцы	сердце	легкие	печень	почки	мозг	мышцы	сердце	легкие	печень	почки	мозг	мышцы	сердце	
V IV	20	Мать	84,82	76,65	78,17	81,65	72,97	76,52	15,18	23,35	21,83	18,35	27,03	23,48	8,27	9,61	10,59	
		Эмбрион	88,82	90,52	89,89	87,33	77,08	88,89	11,18	9,48	10,11	12,67	22,92	11,11	11,06	10,37	12,17	
XXV XXIV	20	Мать	78,45	77,83	78,74	79,85	72,71	77,38	21,55	22,17	21,26	20,15	27,29	22,62	4,49	6,38	5,25	
		Эмбрион	89,23	87,63	87,03	87,32	88,68	78,18	10,77	12,37	12,97	12,68	11,32	21,82	8,61	6,79	4,83	
XVII XVI	25	Мать	77,94	75,47	76,20	79,2	71,08	82,38	22,06	24,53	23,8	20,08	28,92	17,62	6,13	11,73	8,67	
		Эмбрион	79,19	93,19	88,96	86,74	82,38	85,38	10,81	6,81	11,04	13,26	27,62	14,17	7,69	16,9	12,26	
XIX XVIII	25	Мать	77,11	77,25	88,35	79,89	73,68	76,48	22,89	22,75	11,65	20,11	26,32	23,52	6,45	12,43	20,0	
		Эмбрион	90,35	87,46	86,1	87,4	87,84	85,63	9,65	12,54	13,9	12,6	12,16	14,37	3,19	8,01	8,79	
XV XIV	30	Мать	75,96	77,44	81,2	80,13	68,08	81,89	24,04	22,66	18,8	19,87	31,92	18,11	5,97	15,84	12,28	
		Эмбрион	89,28	86,18	83,56	90,31	61,4	85,57	10,2	13,82	16,44	9,69	38,6	14,43	8,77	10,88	12,57	
XXI XX	30	Мать	78,61	77,78	74,85	79,47	66,45	76,6	21,39	22,22	25,15	20,53	33,55	23,4	9,26	—	7,73	
		Эмбрион	88,94	83,71	82,48	82,54	58,78	83,5	11,06	16,29	17,52	17,46	41,22	16,5	13,64	—	17,16	
Мать и родившиеся потомство																		
XII X	1	Мать	80,12	73,74	76,73	77,49	72,48	77,34	19,88	26,26	23,27	22,51	27,52	22,66	8,02	14,69	9,05	
		Новорожденный	88,13	81,14	79,77	80,68	66,17	84,7	11,87	18,86	20,23	19,32	33,83	15,3	8,8	12,6	14,44	
XI	12	Мать	80,12	73,74	76,79	77,49	72,48	77,34	19,88	26,26	23,27	22,51	27,52	22,66	8,02	14,69	9,05	
		Новорожденный	84,75	77,64	76,74	80,52	70,03	79,69	15,25	22,36	23,26	19,48	26,97	20,31	9,68	13,17	14,37	
XIII	34	Мать	80,12	73,74	76,79	77,49	72,48	77,34	19,88	26,26	23,27	22,51	27,52	22,66	8,02	14,69	9,05	
		Новорожденный	81,18	76,79	76,81	76,28	65,77	75,96	18,82	23,21	23,19	23,72	34,23	24,04	9,07	10,36	9,88	

№ опыта	Возраст в днях	Объект	Азот общий в г% сухого вещества				N—NH ₃ в мг% сухого вещества						N—NH ₃ в % N общ.				
			легкие	печень	почки	мозг	мышцы	сердце	легкие	печень	почки	мозг	мышцы	сердце	легкие	печень	почки
V	20	Мать	9,22	6,46	10,46	28,0	18,85	13,42	14,06	9,06	12,52	0,35	0,2	0,13	0,15	0,14	0,12
IV		Эмбрион	6,02	9,16	13,37	21,38	32,28	59,34	22,34	12,52	24,12	0,19	0,31	0,44	0,37	0,14	0,18
XXV		Мать	5,18	8,5	11,07	33,74	23,18	8,01	3,62	9,2	1,5	0,75	0,36	0,15	0,07	0,11	0,014
XXIV	20	Эмбрион	7,06	6,38	1,72	34,72	31,21	52,04	43,52	17,32	11,54	0,4	0,46	1,07	0,62	0,27	0,67
XVII		Мать	10,21	3,4	10,58	33,41	10,4	13,99	11,4	8,75	—	0,54	0,09	0,16	0,11	0,26	—
XVI	25	Эмбрион	8,94	3,51	10,47	31,55	30,55	19,84	16,37	7,75	16,87	0,41	0,18	0,16	0,18	0,22	0,16
XIX		Мать	10,46	5,72	9,54	17,91	27,01	26,0	15,96	9,0	7,82	0,28	0,06	0,13	0,15	0,16	0,08
XVIII	25	Эмбрион	10,21	17,89	9,18	14,3	18,34	9,49	12,38	18,34	19,21	0,45	0,23	0,11	0,12	0,1	0,21
XV		Мать	9,77	7,24	10,59	10,02	12,18	12,76	6,29	5,11	4,97	0,17	0,08	0,1	0,064	0,076	0,047
XIV	30	Эмбрион	13,17	5,24	9,88	27,45	30,34	22,62	30,13	7,82	18,78	0,31	0,28	0,18	0,23	0,15	0,19
XXI		Мать	15,95	12,92	17,89	22,77	6,48	10,3	12,86	5,16	19,05	0,25	—	0,013	0,063	0,04	0,106
XX	30	Эмбрион	17,68	8,06	19,22	26,59	8,41	4,22	5,27	1,55	3,69	0,195	—	0,025	0,03	0,019	0,019
Мать и родившееся потомство																	
XII		Мать	10,04	9,16	8,93	32,74	16,79	11,78	9,6	10,69	17,34	0,41	0,114	0,13	0,095	0,117	0,194
X	1	Новорожденный	12,39	8,08	11,75	15,33	7,95	7,56	9,01	4,08	8,56	0,17	0,063	0,052	0,073	0,051	0,073
XI		Мать	10,04	9,16	8,93	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	12	Новорожденный	11,58	11,34	11,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
XIII		Мать	10,04	9,16	8,93	32,74	16,79	11,78	9,6	10,69	17,34	0,41	0,114	0,13	0,095	0,117	0,194
	34	Новорожденный	10,04	8,47	12,69	28,96	31,3	18,41	16,44	7,48	16,27	0,32	0,3	0,19	0,13	0,09	0,11

Общий азот. В почках и легких беременного животного отмечается нарастание азота параллельно с нарастанием его в тех же органах развивающегося эмбриона; к концу беременности уровень азота в почках больше, чем у небеременной самки. В головном мозгу к концу беременности намечается слабая тенденция к повышению первоначально низкого содержания азота, которое, однако, еще сильно отстает от контрольного. В мышцах, сердце, печени первоначально (к 15-му дню) содержание азота падает, а к концу беременности опять возрастает.

Азотистый баланс беременной женщины протекает с задержкой азота без одновременного нарастания общего азота и мочевины в крови. Отсюда делается вывод о тканевом накоплении азота при беременности (Vignes). Наш материал не позволяет считать отложение белка в тканях характерным для беременности явлением, хотя накопление азота в органах матери в некоторых стадиях беременности возможно.

Между содержанием общего азота в органах матери и плода в каждом отдельном случае (см. таблицу) редко наблюдается параллелизм. Иногда увеличение количества азота у плода совпадает с падением его у матери, что как будто говорит за возможность использования азота матери на построение тканей плода (сердце, 30-й день, серии XX—XXI; печень, 25-й день, серии XVIII и XIX). Абсолютное содержание азота в органах плода то выше, то ниже, чем у матери. Сложность взаимоотношений беременной матери и растущего и строящего свои белки за ее счет плода, очевидно, является причиной запутанности картины и невозможности найти какие-либо устойчивые закономерности в распределении тканевого азота между беременной матерью и эмбрионами, точно так же как между матерью и ее новорожденным потомством.

Содержание преформированного аммиака тоже сильно колеблется в процессе беременности. Мозг и печень обнаруживают тенденцию к его уменьшению к концу беременности, но отношение $\frac{N - NH_3}{N_{\text{общ.}}}$ в пе-

чени растет; в почках количество $N - NH_3$ увеличивается, отношение $\frac{N - NH_3}{N_{\text{общ.}}}$ в течение всей беременности остается ниже, чем в почке взрослого. В легких, сердце и мышцах содержание NH_3 и его отношение к общему азоту довольно значительно колеблется в обе стороны. В конце беременности уровень преформированного аммиака в мозгу, сердце, легких, печени ниже, а в почках и мышцах немного выше, чем у контрольного животного.

Индивидуальное сравнение содержания $N - NH_3$ и отношения $\frac{N - NH_3}{N_{\text{общ.}}}$ в органах матери (табл.) дает вначале резкий перевес в пользу плода (кроме мозга, где найдены обратные соотношения). Этот перевес обнаруживает тенденцию к исчезновению к концу беременности, и в отдельных случаях NH_3 органов плода 30-го дня пре- и 1-го дня постнатальной жизни может даже упасть ниже материнского уровня. Такая картина, очевидно, связана с типичным для эмбрионального периода падением $N - NH_3$ к моменту рождения (сообщение II).

Выводы

1. Беременности сопутствуют значительные изменения в содержании тканевого азота и преформированного аммиака в разных органах, весьма различно направленные.

2. Между химизмом беременной матери (в отношении общего азота и преформированного аммиака) и чрезвычайно сложно переплетенным с ним химизмом эмбрионов отмечаются значительные различия.

3. Характерные для эмбрионального и постнатального периодов возрастные изменения преформированного аммиака органов не обнаруживаются в организме кролика-матери. Это подтверждает выводы нашей предыдущей работы (сообщение II), что описанные изменения свойственны именно эмбриональным и постнатальным периодам и связаны с особенностями их развития, строения белков и неуклеопротеидов тканей, условиями существования, среды и т. д.

ЛИТЕРАТУРА

Vignes, Traité de physiologie, XI, 271, 1934.

ÄNDERUNGEN DES GESAMT-STICKSTOFFS UND DES PRÄFORMIERTEN AMMONIAKS IN DEN ORGANEN DES KANINCHENS IN DER ONTOGENESE UND WÄHREND DER SCHWANGERSCHAFT. MITTEILUNG 3.

H. Heyman

Aus der Biologischen I. P. Pawlow-Station (Dir.: Akademiemitglied L. A. Orbeli) und dem Biochemischen Laboratorium (Vorst.: Prof. W. S. Ssadikow) des I. P. Pawlow-Instituts f. Physiologie (Dir.: Akademiemitglied L. A. Orbeli) der Akademie der Wissenschaften der UdSSR

Untersucht wurden die Organe von Kaninchweibchen am 15., 20., 25., und 30. Tag der Schwangerschaft. Als Kontrolle dienten die Organe nichtschwangerer Weibchen. Der Gehalt der Organe der Mutter an Wasser, Gesamt-N und präformiertem Ammoniak wurde jeweils mit den entsprechenden Werten in den Organen der Nachkommenschaft — Embryonen oder neugeborenen Kaninchen — verglichen.

Der Wassergehalt in den Organen des schwangeren Tieres ist schwankend. Er ist — vielleicht wegen der allgemeinen Steigerung der Stoffwechselvorgänge während der Schwangerschaft — beim graviden Tier höher als bei den Kontrolltieren, aber bedeutend niedriger als in den Organen der zugehörigen Embryonen. Gegen Ende der Schwangerschaft, und im Masse der Abnahme des Wassergehalts der Embryonen wird dieser Unterschied in erheblichem Masse ausgeglichen.

Gesamt Stickstoff. In den Nieren, Lungen und dem Gehirn des schwangeren Tieres lässt sich ein Anstieg des Stickstoffgehalts nachweisen. In Herz, Leber und Muskeln nimmt der anfänglich (am 15. Tag) hohe Stickstoffgehalt ab und steigt gegen Ende der Schwangerschaft wieder an. Der Gehalt an präformiertem Ammoniak weist ebenfalls im Laufe der Schwangerschaft starke Schwankungen auf. In Gehirn und Leber liegt eine Tendenz vor zur Abnahme des Ammoniaks vom 20. Tag bis zum Ende der Schwangerschaft, aber das Verhältniss $\frac{\text{NH}_3\text{-N}}{\text{Gesamt-N}}$ nimmt zu.

In den Nieren steigt die Menge des Ammoniak-N an; sein Verhältnis zu dem Gesamt-N bleibt während der ganzen Dauer der Schwangerschaft niedriger als in der Niere des erwachsenen Kaninchens. In den Lungen, dem Herzen und den Muskeln werden bedeutende Schwankungen nach beiden Seiten beobachtet.

Der individuelle Vergleich des Gehalts an Ammoniak-N und seines Verhältnisses zum Gesamt-N ergibt in den Organen der Mutter anfangs ein starkes Übergewicht zugunsten des Foetus, das gegen Ende der Schwangerschaft verschwindet, offenbar infolge der typischen Ammoniakabnahme in den Organen des Embryos um den Zeitpunkt der Geburt.

РОЛЬ ГИПОФИЗА В ЯВЛЕНИЯХ СНА ПРИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОМ РАЗДРАЖЕНИИ ПОДКОРКОВЫХ УЗЛОВ¹

Е. А. Моисеев и А. В. Тонких

Из Физиологического института им.
акад. И. П. Павлова (дир.—акад.
Л. А. Орбели) Академии наук СССР

Поступила в редакцию 1.VI.1939 г.

Нами было показано, что электрическое раздражение подкорковых узлов (по методу Hess) у кошек вызывает сон в случаях локализации электродов (раздражения) в гипоталамической области (1) и что в осуществлении этой формы сна играют роль симпатические волокна, идущие к голове, ибо электрическое раздражение гипоталамической области при той локализации электродов, при которой у нормальных кошек наступал сон, не вызывает сна у кошек, лишенных симпатической иннервации головы (2).

При выяснении механизма участия симпатической нервной системы в данной форме сна мы обратили внимание прежде всего на гипофиз.

Первым основанием для этого являлись имеющиеся в клинической литературе указания на участие гипофиза в явлениях сна.

На роль гипофиза в явлениях сна еще в 1906 г. указывал впервые Salmon (3) на основании клинических наблюдений. Он приводит много случаев расстройства сна при заболеваниях гипофиза, выражающихся патологической спячкой или бессонницей, причем эта бессонница часто могла быть излечена применением препаратов гипофиза.

Позже Salmon неоднократно возвращается к этому вопросу, приводя все новые клинические доказательства в пользу своей теории. Он рассматривает сон как депрессию симпатической нервной системы и роль гипофиза в явлениях сна представляет следующим образом. Накапливающиеся в организме во время бодрственного состояния продукты метаболизма вызывают секрецию гипофиза, который очень чувствителен к этим продуктам. Сосудосуживающий гормон задней доли гипофиза, поступая непосредственно в цереброспинальную жидкость, вызывает сужение сосудов мозга, понижая тем в первую очередь возбудимость симпатических центров, что ведет к депрессии симпатической нервной системы. Чем больше бодрствует человек или животное, тем больше накапливается продуктов метаболизма и тем больше выделяется гормонов гипофиза.

Антитоксический гормон передней доли гипофиза, выделяющийся также под влиянием продуктов метаболизма, играет роль в восстановительных процессах во время сна. Внешним выражением восстановления в нервных клетках во время сна является накопление в их протоплазме хроматофильных веществ, которые в бодрственном состоянии исчезают.

Патологическую гиперсомнию Salmon объясняет гиперсекрецией гормонов гипофиза, а бессонницу — недостаточностью их.

Позже Zondek и Bier (4), высказывая предположение об участии гипофиза в явлениях сна, приписывают эту роль особому бромсодержащему гормону его. Они обратили внимание на то, что у маниакально-депрессивных больных содержание брома в крови понижено и эти больные страдают бессонницей. Отсюда у них возник вопрос о связи между содержанием брома и сном. Далее, исследуя различные органы на содержание брома, они нашли, что больше всего брома содержится в гипофизе, в его передней доле. Содержание брома в гипофизе уменьшается с возрастом, доходя до едва заметных следов и даже полного отсутствия его у стариков, что авторы ставят в связь с малой потребностью в сне у стариков. В опытах на собаках они нашли, что во время

¹ Доложено 9.V.1939 г. на 5-м совещании по физиологическим проблемам, посвященном памяти И. П. Павлова.

сна содержание брома в гипофизе уменьшается, но увеличивается содержание его в продолговатом мозгу. Через 3—4 часа после пробуждения содержание брома в мозгу и гипофизе приходит к норме.

Снотворным действием обладает органическое соединение брома (Tetrabrom-desjodothyroxin). Введение его в затылочную цистерну в количестве 3—5 мг вызывает у собак уже через 0,5 часа явления сонливости, продолжающейся в течение 10 часов, в то время как введение 20 мг NaBr оставалось без эффекта. Введение экстракта гипофиза, содержащего бром, вызывало у собак сонливость в течение 24—26 часов; введение такого же количества экстракта гипофиза, не содержащего брома, или экстрактов других органов (печени, мозга, мышц) не оказывало такого эффекта.

Данные о более высоком содержании брома в гипофизе, чем в других органах, были подтверждены рядом авторов, в частности, Werner (5), который, кроме того, нашел, что у собак, находящихся под морфинным и хлорал-гидратным наркозом, содержание брома в гипофизе ниже, чем у контрольных животных.

Вторым основанием для нас направить свое внимание на гипофиз были литературные данные о наличии иннервационных связей между гипофизом и гипоталамической областью.

Как со стороны физиологов, так и со стороны морфологов мы имеем достаточно доказательств того, что секрция гипофиза находится под контролем гипоталамической области и что этот контроль осуществляется нервными волокнами, идущими к гипофизу прямо через infundibulum, и нервными волокнами, которые достигают гипофиза окольным путем — через шейные симпатические нервы. А. Gemelli (6) еще в 1907 г. описал червные волокна между п. supraorbitalis и гипофизом. После того появился целый ряд исследований, доказывающих связь гипофиза с теми или иными ядрами гипоталамической области [Danby (7), Greving (8), Lewy (9), Hare (10), Могильницкий (11), Пинес (12), Майман (13), Швабауэр (14) и др.]. Dandy и позднее Пинес показали, что у кошек и собак железистая часть гипофиза снабжена обильными разветвлениями симпатических нервов, идущих из plexus caroticus. Затем Майман показала, что передняя доля гипофиза получает волокна, идущие в шейном симпатическом стволе; так, удаляя весь гипофиз, она находила перерождение в нервных клетках п. supraorbitalis и в верхнем шейном симпатическом узле, при удалении же только передней доли гипофиза, перерожденные клетки были обнаружены только в верхних шейных симпатических узлах.

Наличие в шейном симпатическом нерве волокон, иннервирующих гипофиз, было доказано и физиологическими опытами. Ряд авторов [Cushing, Weed и Jacobson (15), Шамоу (16), Pak (17), Bacc (18), Vogt (19) и др.], раздражая шейный симпатический нерв, наблюдал в результате этого раздражения увеличение в крови или цереброспинальной жидкости того или иного гормона гипофиза. Таким образом, при раздражении гипоталамической области в наших случаях мы должны были думать о секрции гипофиза. Лишая же голову симпатической иннервации, мы тем самым нарушали и секреторные волокна, идущие этим путем к гипофизу.

Третье соображение, которое руководило нами, это особенности оттока гормонов гипофиза.

Выделяемые гипофизом гормоны попадают не только в кровь, но непосредственно в цереброспинальную жидкость, как это было показано целым рядом авторов [Herring (20), Collin (21), Celestino da Costa (22) и др.], которые наблюдали под микроскопом поступление коллоида из гипофиза в полость воронки, а оттуда в 3-й желудочек мозга. Далее, существует большая литература о том, что в цереброспинальной жидкости можно обнаружить различными физиологическими тестами наличие почти всех известных до сих пор гормонов гипофиза.

Не исключена возможность попадания гормонов гипофиза непосредственно в гипоталамическую область. Так, Edinger (23) еще в 1911 г. описывал особые «сосуды» между гипофизом и основанием серого бугра, а в 1930 г. G. Pora и U. Fielding (24) описали у человека венозную гипофизо-портальную систему, соединяющую гипофиз с гипоталамической областью. По их описанию, приходящие к гипофизу артерии распадаются на капилляры, переходящие в вены, которые по поверхности воронки направляются в гипоталамическую область, где снова распадаются на капилляры. Несколько позже Basir (25) описал наличие такой гипофизо-портальной системы и для мозга собаки.

Эта особенность оттока гормонов гипофиза не учитывалась, повидимому, теми авторами [Neri, Borgatti, Dagnini, Seaglietti (26)], которые на основании

опытов с перекрестным кровообращением отрицали то или иное гормональное участие в явлениях сна.

Для выяснения вопроса об участии гипофиза в изучаемой нами форме сна мы производили электрическое раздражение гипоталамической области у гипофизэктомированных кошек.

Удаление гипофиза производилось нами через рот. У кошки, находящейся под эфирным наркозом в положении на спине, широко открывали рот, язык оттягивали к нижней челюсти и производили небольшой разрез слизистой оболочки на основании черепа. Местонахождение гипофиза под костью можно легко обнаружить по маленькому латныйску — след бывшего протока (*d. glossopharyngealis*), связывающего в эмбриональной жизни гипофиз с полостью глотки. Сделав в этом месте небольшое отверстие в кости, мы тоненькими инструментами — крючком, пинцетом — удаляли гипофиз. В последнее время мы перешли на выжигание гипофиза электрокаутером. Это представляет те выгоды, что сопровождается меньшим кровотечением, которое является одним из частых осложнений операции удаления гипофиза.

Электрическое раздражение гипоталамической области по тому же способу, как и в предыдущих сериях, у нормальных кошек мы производили в различные сроки после гипофизэктомии (от 1 до 15 дней). После опыта животные умерщвлялись хлороформированием и мозг их фиксировался в жидкости Orth для последующего анатомо-гистологического исследования. Провералась полнота удаления гипофиза, и в случае неполного удаления остатки его фиксировались в жидкости Helly и затем исследовались гистологически.

Всего гипофизэктомированных кошек под опытом с электрическим раздражением подкорковых узлов у нас было 28. Только у 3 из них были явления дремоты после раздражения, о чем подробнее будет сказано ниже. При последующем анатомическом исследовании мозга у 9 кошек следы электродов были найдены вне гипоталамической области (*thal. opticus, nucl. caudatus*), т. е. локализация раздражения была таковой, при которой и у нормальных кошек мы не получали явлений сна. У 3 кошек следы электродов были найдены в боковой стенке *infundibuli*. Такой локализации в опытах с нормальными кошками в наших случаях не встречалось, но, по опытам Михалевой (27), электрическое раздражение этой области также вызывает сон. У одной кошки (№ 109) следов электродов обнаружить вообще не удалось. У остальных 15 кошек следы электродов были найдены в гипоталамической области, т. е. локализация раздражения была таковой, при которой у нормальных кошек мы получали явления сна. 3 животных из этого числа мы исключаем из рассмотрения, потому что после вставления электродов у них наблюдалось сопорозное дремотное состояние, что, повидимому, было связано с наличием более или менее значительного кровоизлияния в области нахождения электродов, обнаруженного при анатомическом исследовании их мозга.

Остальные 12 кошек из этой группы после вставления электродов довольно скоро оправлялись от наркоза и находились в нормальном состоянии, т. е. представляли хороший фон для опытов с раздражением. У каждой из этих кошек мы производили раздражение неоднократно и у 9 из них мы ни разу не наблюдали каких-либо явлений сна; у одной кошки (№ 114) наблюдалась мимолетная (4—5 минут) дремота, у 2 кошек (№ 110 и 113) раздражение вызвало ясную дремоту. У этих 3 кошек гипофиз оказался удаленным неполностью.

Микроскопическое исследование кусочков гипофиза, оставшихся не удаленными в опытах № 110, 113 и 114, показало, что во всех 3 случаях была оставлена большая (№ 114) или меньшая (№ 110 и 113) часть переднего отдела передней доли гипофиза. Все три кусочка были сравнительно мало травмированы и сохраняли клеточные элементы, хорошо красившиеся на срезах обычными красками. Клеточный состав варьировал так, что, наряду с обычным соотношением базофильных и

эозинофильных клеток (опыт № 114), в опыте № 110 весь оставшийся кусочек передней доли состоял из клеток с ацидофильной протоплазмой.

В опытах № 113 и 114 и в меньшей мере в опыте № 110 периферический слой передней доли гипофиза представлял железистое строение. Фолликулы были неравной величины и разной конфигурации, отчасти заполнены базофильным коллоидом. Бросается в глаза почти полное отсутствие хромофобных клеток.

Из числа 9 кошек, у которых электрическое раздражение гипоталамической области не вызвало явлений сна, у 6 гипофиз был удален полностью и у 3 (№ 100, 103 и 115) он оказался удаленным частично.

При микроскопическом исследовании кусочков, изъятых на вскрытии подопытных кошек № 100, 103 и 115, было найдено, что у кошек № 100 и 103 эти кусочки состояли из остатков задней доли, иногда сохранившейся довольно хорошо (опыт № 103), иногда целиком некротизированной и пропитанной кровью (опыт № 100). В опыте № 115 при операции был оставлен головной (передний) отдел передней доли гипофиза. Задняя доля была изъята полностью. При микроскопическом исследовании на сагиттальных срезах оказалось, что задняя половина оставшегося кусочка целиком некротизирована (красится диффузно эозином в красный цвет), тогда как передняя часть кусочка сравнительно хорошо сохранила свою гистоструктуру, мало отличавшуюся от нормы.

Хотя у кошки № 115 сохранилась значительная часть передней доли гипофиза, которая, повидимому, имеет значение в явлениях сна при раздражении гипоталамической области, но отсутствие этих явлений в данном случае, вероятно, объясняется перерывом некротизированной областью путей для выделения продуктов, вырабатываемых этой оставшейся частью передней доли гипофиза.

Явления, которые мы наблюдали при раздражении гипоталамической области у нормальных кошек, как-то: расширение зрачков, «игру зрачков», слюноотделение, глотательные движения, повышение температуры тела, имели место и у гипофизэктомизированных кошек.

Кроме того, нами были поставлены опыты с электрическим раздражением гипоталамической области на 4 кошках, у которых гипофиз был не удален, а только отделен от мозга и оставался на месте в турецком седле. Отделение гипофиза мы производили, подходя к нему со стороны черепа. Отделив мышцы головы и сколов сбоку черепную кость, мы слегка приподнимали мозг от основания черепа и перерезали воронку, после чего прикрывали дефект в кости мышцей и зашивали рану. Спустя 4, 19, 24 и 84 дня были вшиты электроды и произведено электрическое раздражение, которое вызвало ясную картину дремоты у всех 4 кошек. При анатомическом исследовании следы электродов были найдены в гипоталамической области.

Кроме того, нами был поставлен ряд опытов на кошках же с введением препаратов гипофиза в боковые желудочки мозга. Введение препарата задней доли гипофиза в боковые желудочки мозга у людей, по опытам Cushing (28), вызывает явления, характерные для раздражения парасимпатического нерва, — покраснение лица (расширение сосудов), обильное отделение пота, иногда явления рвоты и иногда падение температуры тела. При подкожном введении питуитрина наблюдается, наоборот, побледнение лица (сужение сосудов). Такие же явления, как и питуитрин, дает введенный в боковые желудочки мозга пилокарпин. Атропин, введенный под кожу или в боковые желудочки мозга перед введением питуитрина или пилокарпина или одновременно с ними, препятствует наступлению указанного выше эффекта от введения этих веществ. Действие питуитрина при введении его в боковые желудочки мозга Cushing объясняет непосредственным влиянием его на центры

парасимпатической нервной системы. Расширение сосудов лица у обезьян видели также Light и Bysshe (29) при введении питуитрина в боковые желудочки мозга; неопределенный эффект был получен Lawrence и Dial (30) на собаках при введении питуитрина (препарат задней доли) в мозговые желудочки. По опытам Штерн, введение в мозговые желудочки препаратов гипофиза вызывает явления, напоминающие сон.

Мы производили введение препаратов гипофиза или шприцем через заранее приготовленное трепанационное отверстие, или через заранее вставленную в боковые желудочки полую кварцевую или серебряную иглу, которая при помощи особой держалки винтами прикреплялась к костям черепа. Количество вводимого в наших опытах вещества было 0,1—0,2 см³. Для последующего определения места введения вещества к нему прибавлялась в небольшом количестве тушь. Как показали контрольные опыты, прибавка к препаратам гипофиза туши не изменяла действия гормонов гипофиза. Так, введение под кожу лягушки препарата задней доли гипофиза как без туши, так и с прибавкой туши вызывало одинаково хорошо расслабление меланофор кожи лягушки.

Мы в наших опытах вводили препараты гипофиза фабрики эндокринных препаратов НКЗдрава: питуикрин Т, питуикрин А и питуикрин Р. При введении в боковые желудочки мозга кошки питуикрина Т — препарата, содержащего гормоны всего гипофиза, мы в большинстве случаев наблюдали явления дремоты, наступавшей через 10—15 минут после введения. То же самое мы получали и при введении свежеприготовленного на физиологическом растворе NaCl экстракта из гипофизов только что убитых кошек. Такую же картину мы получали и при введении питуикрина А — препарата передней доли гипофиза. При введении же препарата задней доли гипофиза — питуикрина Р — мы ни разу не наблюдали явлений сонливости или дремоты; отмечались лишь небольшое слюнотечение, небольшая одышка в первые 8—10 минут после введения. Контрольное введение физиологического раствора в таком же количестве не сопровождалось никакими явлениями.

При обсуждении наших данных на 5-м физиологическом совещании (Москва, май 1939 г.) нам было сделано замечание проф. Н. А. Рожанским, что отсутствие явлений сна при раздражении гипоталамической области у гипофизэктомированных кошек можно объяснить влиянием травмы гипоталамической области при гипофизэктомии. Это предположение нельзя признать правильным по следующим основаниям: 1) отсутствовали изменения, определяемые гистологическим путем; 2) на сохранность функции гипоталамической области указывало то обстоятельство, что те явления, которые мы наблюдали у нормальных кошек при раздражении гипоталамической области (расширение зрачков, иногда «игра зрачков», слюнотечение, повышение температуры тела), имели место и у гипофизэктомированных кошек, на что уже указывалось выше; 3) в тех случаях, где гипофиз был не удален, а только отделен, мы имели явления сна при раздражении гипоталамической области, хотя в последнем случае в силу самого способа оперирования было бы больше оснований говорить о травматизации гипоталамической области.

Таким образом, наши данные с достаточной убедительностью, как нам думается, говорят об участии гипофиза в изучаемой нами форме сна. Эта роль принадлежит, повидимому, передней доле его. С этой точки зрения та концепция, которую развивает Salmon, отводя главную роль в наступлении сна сосудосуживающему гормону задней доли гипофиза, вряд ли может быть принята. Нужны также специальные исследования для решения вопроса, принадлежит ли эта роль бромсодержащему гор-

мону передней доли гипофиза, как думают Zondek и Bier, или каким-либо другим гормонам его.

Хотя наши данные относятся к определенной экспериментально вызванной форме сна, но мы не исключаем возможности участия гипофиза в явлениях нормального физиологического сна. В наших опытах секрецию гипофиза вызывало электрическое раздражение гипоталамической области. Мыслимо, что и в норме под влиянием каких-то ближе нам еще неизвестных физиологических условий наступает секреция имеющего отношение ко сну гормона гипофиза, который влияет на центральную нервную систему, создавая в ней определенный, благоприятствующий наступлению сна фон.

Таким образом, какую бы в конечном счете мы ни приняли теорию сна, мы должны будем считаться с участием вегетативной нервной системы и гормональных факторов.

Выводы

1. Электрическое раздражение гипоталамической области при той локализации электродов, при которой у нормальных кошек наступает сон, у гипофизэктомизированных кошек сна не вызывает.
2. При неполной гипофизэктомии, в случае наличия остатков передней доли гипофиза, электрическое раздражение гипоталамической области вызывает дремоту.
3. В случаях, когда гипофиз не удален, а только отделен от мозга, электрическое раздражение гипоталамической области сопровождается ясной картиной сонливости.
4. При введении в боковые желудочки мозга кошки препаратов гипофиза — питуикрина Т и питуикрина А — наблюдаются сонливость и дремота. Этого не наблюдается при введении препарата задней доли гипофиза — питуикрина Р.
5. Вышеприведенные данные доказывают участие передней доли гипофиза в явлениях сна, вызываемого электрическим раздражением гипоталамической области.

ЛИТЕРАТУРА

- Михалева, Моисеев и Тонких, Физиолог. журн. СССР, 26, в. 4, 389-1939.—Моисеев и Тонких, Физиолог. журн. СССР, 26, в. 4, 39, 1939.—Salm on, Rev. de méd., 25, 368, 1905; 30, 765, 1910; Rev. neurol., 1, 841, 1927; Zbl. ges. Neurol. u. Psych., 60, 771, 1931; Presse méd., No. 2, 20, 1932.—Zondek u. Bier, Klin. Wschr., 18, 759, 1932.—Werner, Vol. jubil. en l'honneur du Parhon, 540, 1934.—Gemelli, Arch. ital. di biol., 47, 185, 1907.—Dandy, Amer. Journ. Anat., 15, 333, 1913.—Grev ing, Ztschr. ges. Neur. u. Psych., 104, 1926; Klin. Wschr., 5, Nr. 19, 865, 1926.—Lewy, Berl. Gesellschaft f. Psych. u. Nervenkrank., 10/III 1924.—Hare, Amer. Journ. Physiol., 119, 326, 1937.—Могильный, Мед.-биол. журн., IV, 1927.—Пинес, Journ. physiol. u. neur., 32, 80, 1925; Ztschr. ges. Neur. u. Psych., 100, H. 1, 1925; 129, 1930.—Майман, Ztschr. ges. Neurol. u. Psych., 129, H. 5, 2930.—Швабауэр, Мед. биол. журн., IV, 1927.—Cushing, Weed a, Jacobson, John Hopkins Hosp. bull., 24, 40, 1913.—Шамов, Amer. Journ. physiol., 39, 279, 1916.—Pak, Arch. exp. Path. u. Pharm., 114, 351, 1926.—Bacq, C. r. Soc. biol., 107, 1931.—Vogt, Arch. exp. Path. u. Pharm., 162, 1931.—Herring, Quart. Journ. physiol., 151, 1908.—Collin, Cr. Soc. biol., 91, 1334, 1924; Rev. franç. d'endocr., 4, No. 4, 1926.—Celestino da Costa, Cr. Soc. biol., 88, 1923.—Edinger, Arch. micros. Anat., 78, 496, 1911.—Papa u. Fieding, Journ. Anat., 65, 88, 1930.—Basir, Journ. Anat., 66, 387, 1932.—Neri, Borgatti, Daguini, Seaglietti, Rev. neurolog., 41, No. 6, 1931.—Михалева (неопубликованные опыты).—Cushing H., Proc. Nation. Acad. of sci., 17, No. 4, 163, 1931.—Light a. Bysshe, Journ. pharm. and exp. therap., 47, 17, 1933.—Lawrence a. Dial, Proc. Soc. exper. biol. a. med., 30, No. 1, 1932.

LA PARTICIPATION DE L'HYPOPHYSE DANS LES PHÉNOMÈNES DE SOMMEIL ENSUITE DE LA STIMULATION ÉLECTRIQUE DES GANGLIONS SOUS-CORTICAUX

E. A. Moisseïev et A. V. Tonkih

Institut de Physiologie I. P. Pavlov (Dir.: L. A. Orbeli, Membre de l'Académie) de l'Académie des Sciences de l'URSS

1. La stimulation électrique de la région hypothalamique, la situation des électrodes étant telle que les chats normaux sont plongés en sommeil, ne produit point de sommeil chez les chats hypophysectomisés.

2. Dans les cas d'hypophysectomie incomplète, laissant subsister des restes du lobe antérieur de l'hypophyse, la stimulation électrique de la région hypothalamique résulte en un état somnolent.

3. Quand l'hypophyse n'est point éloignée, mais seulement retranchée du cerveau, l'irritation électrique de la région hypothalamique provoque une somnolence bien définie.

4. L'introduction, dans les ventricules latéraux du cerveau du chat, d'extraits hypophysaires — pituicrine T ou pituicrine A — déclenche la somnolence et le demi-sommeil. Cet effet ne se produit guère lors de l'introduction d'extrait du lobe postérieur — la pituicrine P.

5. Ces résultats donnent la preuve de la participation du lobe antérieur de l'hypophyse dans les phénomènes de sommeil provoqué par la stimulation électrique de la région hypothalamique.

СУДЬБА НУКЛЕИНОВОЙ КИСЛОТЫ В КИШЕЧНИКЕ И ПЕЧЕНИ ПО ОПЫТАМ НА АНГИОСТОМИРОВАННЫХ СОБАКАХ

Л. В. Попель

Из отдела обмена веществ (зав.—засл.
деят. науки проф. [Е. С. Лондон])
Ленинградского филиала ВИАМ

Поступила в редакцию 20.III.1939 г.

Литература относительно всасывания и межклеточного обмена нуклеиновых кислот до настоящего времени содержит очень много противоречий. Вследствие этого мы решили уточнить некоторые вопросы из этой области, поставив соответствующие исследования на собаках с двумя ангиостомическими канюлями: на *v. portae* и *v. hepatica*.

Мы изучали участие кишечника и печени собаки в пуриновом обмене после пищевой нагрузки, богатой нуклеиновыми веществами.

Опыты были поставлены на взрослых молодых собаках весом 16 кг и выше, ангиостомированных по методу Е. С. Лондона. В качестве пищевого материала была выбрана вилочковая железа телянка. Свободные и связанные пуриновые основания определялись в сыворотке крови животного по методу Thannhauser и Czoniczer (1).

Условия проведения экспериментов были следующие.

Собаке, голодавшей в течение 24 часов, скармливали 1—1,5 кг измельченной и сваренной *gl. thymus* телянка и через 1,5—2 часа после кормления брали кровь из 3 сосудов: *a. femoralis*, *v. porta* и *v. hepatica*. Полученные цифровые данные приведены в таблице.

№ опыта	№ собаки	Азот свободных пуриновых оснований в мг%			Азот связанных пуриновых оснований в мг%			± Кишечник		± Печень	
		<i>a. femoralis</i>	<i>v. porta</i>	<i>v. hepatica</i>	<i>a. femoralis</i>	<i>v. porta</i>	<i>v. hepatica</i>	Азот свободных пуриновых оснований в мг%	Азот связанных пуриновых оснований в мг%	Азот свободных пуриновых оснований в мг%	Азот связанных пуриновых оснований в мг%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	68	0,38	0,79	0,55	0,10	2,40	—	+0,41	+2,30	—0,11	—
2	68	0,12	0,52	0,25	0,81	1,39	0,17	+0,40	+0,58	—0,13	—1,03
3	99	0,32	0,86	0,42	0,28	1,24	0,42	+0,54	+0,96	—0,26	—0,50
4	45	0,36	0,86	0,48	0,10	1,55	1,09	+0,50	+1,45	—0,21	+0,02
5	99	0,41	0,56	0,42	0,26	1,33	0,45	+0,15	+1,07	—0,10	—0,52
6	81	0,48	1,14	0,75	0,48	1,58	0,38	+0,66	+1,10	—0,17	—0,83
7	5	0,36	0,59	0,29	1,69	1,98	0,50	+0,23	+0,29	—0,22	—1,38
8	25	0,49	1,36	0,55	0,66	1,92	0,26	+0,87	+1,26	—0,52	—1,24
9	49	0,87	0,99	0,60	1,61	1,83	1,02	+0,12	+0,22	—0,35	—0,74
Среднее из 9 опытов:								—	—	—	—
								+0,43	+1,03	—0,23	—0,83 ¹

¹ Среднее для графы 12 выведено из 7 опытов. В опыте № 4 печень отдала небольшое количество связанных пуриновых оснований—0,02 мг%. Практически это количество весьма мало, и так как во всех остальных опытах печень всегда задерживала связанные пуриновые основания, то мы имели основание заключить о задерживающей функции печени. При расчете средних эта величина не принималась во внимание.

Свободные и связанные пуриновые основания были найдены нами в крови всех трех сосудов. Эти данные не совпадают с данными ряда исследователей. Bass (2), Jackson (3), Mozolowski (4), Buell и Perkins (5), исследуя кровь человека и различных животных, находили преимущественно нуклеотиды и поэтому пришли к заключению о существовании в крови только нуклеотидносвязанных пуриновых оснований. Найденное небольшое количество свободных пуриновых оснований авторы приписывают аутолизу, наступающему при длительном стоянии крови. Это не совсем правильно, так как Mozolowski находил и в свежеснятой крови человека и свиньи небольшое количество свободных пуриновых оснований.

Из наших опытов (6), проведенных в 1935/36 г. в лаборатории Е. С. Лондона, известно, что у собаки натошак и в состоянии покоя в периферической крови имеется небольшое количество свободных пуриновых оснований (от 0,09 до 0,37 мг% азота), возрастающее в несколько раз после пищевой нагрузки. В некоторых опытах количество азота свободных пуриновых оснований в периферической крови и в крови *v. hepatica* было даже больше количества азота связанных пуринов. Что это не случайное явление, следует также из того, что повышенное содержание свободных пуриновых оснований наблюдалось у разных собак в различных условиях опыта.

Аналогичные отношения мы видим и в приведенной таблице. В артериальной крови (опыты № 1, 3, 4, 5) и в крови *v. hepatica* (опыты № 2, 6, 8) количество азота свободных пуринов в несколько раз превышает количество азота связанных пуриновых оснований, и только в крови воротной вены количество азота связанных пуринов во всех опытах в несколько раз больше количества азота свободных пуриновых оснований.

Во всех наших экспериментах промежуток времени, протекавший с момента взятия крови до осаждения белков, исчислялся 1,5—2 часами и только в очень редких случаях доходил до 5 часов. Этот фактор, следовательно, не мог существенно влиять на содержание свободных пуриновых оснований в крови, как это следует и из данных Мозоловского.

Полученные нами результаты позволяют сделать следующие выводы:

1. Из кишечника в воротную вену всасываются и свободные, и связанные пуриновые основания.

2. Большая часть пуриновых оснований (1,03 мг% азота—71%) всасывается из кишечника в связанном состоянии, а оставшаяся (0,43 мг% азота—29%) в виде свободных пуринов, другими словами, количество связанных пуриновых оснований, всосавшихся из кишечника в воротную вену, в 2,5 раза больше количества всосавшихся свободных пуринов.

3. Печень задерживает из притекающей к ней крови значительную часть свободных и связанных пуриновых оснований. Из общего количества удержанных печенью пуриновых оснований азот свободных пуринов составляет в среднем 23 мг% и азот связанных пуриновых оснований—83 мг%.

Печень задерживает, таким образом, в преобладающем количестве связанные пуриновые основания в 3,5 раза больше, чем свободные пурины.

Полученные нами результаты позволяют утверждать, что при нормальных условиях в животном организме и свободные, и связанные пуриновые основания являются физиологическими промежуточными продуктами интермедиарного обмена неуклеиновых веществ, но связанные пуриновые основания принимают значительно большее участие в этом обмене.

ЛИТЕРАТУРА

Thannhauser S. u. Czoniczer, Ztschr. physiol. Chem., 110, 307, 1920.—
 2. Bass, Arch. exp. Rharm. u. Pathol., 40, 1914.—3. Jackson, Journ. biol. chem., 59,
 529, 2924.—Mozolowski, Biochem. Ztschr., 206, 150, 1929.—5. Buell M. a. Per-
 kins M., Journ. biol. Chem., 76, 95, 1928.—Попель Л., Труды Физиологического
 ин-та ЛГУ, 19, 20, 1937,

DAS SCHICKSAL DER NUKLEINSÄURE IN DARM UND LEBER, NACH VERSUCHEN AN ANGIOSTOMIERTEN HUNDEN

L. W. Popel

Abteilung f. Pathologie des Stoffwe-
 chsels (Vorst.: Prof. emer. E. S. London)
 der Leningrader Filiale des WIEM

Die widerspruchsvollen Angaben der Literatur über den intermediären Stoffwechsel der Nukleine veranlassten mich, die Frage einer Nachprüfung zu unterziehen. Zu diesem Zweck benutzte ich erwachsene junge Hunde von etwa 16 kg Körpergewicht mit zwei, an der *V. portae* und der *V. hepatica* angebrachten Gefässkanülen nach dem Angiostomie-Verfahren von E. S. London. Die Tiere wurden mit Kalbsthymus gefüttert. Die Versuchsbedingungen waren folgende: nach einer Hungerperiode von 24 Stunden wurden dem Tier 1—1½ kg zerkleinerte abgekochte Thymusdrüse verabreicht, und 1½—2 Std. nach der Fütterung wurde gleichzeitig aus der *V. femoralis*, der *V. hepatica* und der *V. portae* Blut entnommen. Im Blutserum des Tiers wurden die freien und die gebundenen Purinbasen nach dem Verfahren von Tannhauser und Czoniczer bestimmt. Die Analysenwerte sind in der Tabelle angeführt. Die Versuchsergebnisse berechtigen zu nachstehenden Schlussfolgerungen:

1. Aus dem Darm werden sowohl freie als auch gebundene Purinbasen resorbiert.

2. Der überwiegende Teil der Purinbasen—71% (1,03 mg% des Stickstoffs) wird aus dem Darm in gebundenem Zustand resorbiert, und nur 29% (0,43 mg% des Stickstoffs) gelangen in freier Form zur Resorption. Mit anderen Worten, es ist die Menge der gebundenen Purinbasen, die aus dem Darm in die Pfortader resorbiert werden, 2,5 mal so gross wie die Menge der resorbierten freien Purine.

3. In der Leber wird ein bedeutender Teil der freien und gebundenen Purine des zuströmenden Bluts retiniert. Von der Gesamtmenge der retinierten Purine entfallen durchschnittlich 0,23 mg% auf den Stickstoff der freien Purine und 0,83 mg% auf den Stickstoff der gebundenen Purine.

4. Die Menge der von der Leber zurückgehaltenen gebundenen Purinbasen übertrifft diejenige der freien Purine um das 3—4fache.

Auf Grund unserer Untersuchungen an angiotomierten Hunden kann der Schluss gezogen werden, dass unter normalen physiologischen Bedingungen sowohl gebundene wie freie Purinbasen am intermediären Umsatz der Nukleinsäure beteiligt sind, dass aber die gebundenen Purinbasen dabei den überwiegenden Anteil haben.

РАЗЛИЧНЫЕ ФОРМЫ БРОМА В КОРЕ И БЕЛОМ ВЕЩЕСТВЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА СОБАКИ (УЛЬТРАФИЛЬТРУЕМЫЙ И НЕУЛЬТРАФИЛЬТРУЕМЫЙ БРОМ)

А. Ф. Шошин

Из биохимической лаборатории
(зав.—проф. В. С. Садиков) Физиологического института им. акад. И. П. Павлова (дир.—акад. Л. А. Орбели)
Академии наук СССР

* Поступила в редакцию 17.V.1939 г.

Наличие в животном организме брома как составной части различных тканей и органов является твердо установленным [Bernhardt и Ucko (1), Toxoréus (2), Zondek и Bier (3), Leipert (4), Ucko (5), Neufeld (6) и др.]. Что же касается содержания брома в разных животных организмах, то данные об этом приведены в книге Садикова (7). Помимо вопроса об общем содержании брома, большой интерес представляет вопрос о характере химических соединений брома, находящегося в теле животного. В этом отношении имеется сравнительно немного литературных данных. Так, например, Zondek и Bier на основании своих исследований считают, что в крови человека находится примерно 30% ионизированного и 70% органически связанного брома. Ucko указывает, что около $\frac{1}{2}$ общего количества брома находится в виде органических соединений (фракция спиртонерастворимой части крови).

Doering (8, 9) обнаружил в крови органически связанный бром, очень прочно соединенный с углеродом.

На основании сделанного нами расчета из данных, представленных в работе Doering (9), следует, что около 17% общего брома в крови человека (среднее из 5 опытов) падает на долю органически связанного брома, не поддающегося минерализации при воздействии HNO_3 при 100° (колебания от 11 до 22%).

Соотношение между различными формами брома в крови установлено также Moruzzi и Pietro Guareschi (10), определившими диффузионный бром посредством ультрафильтрации через свечу Chamberland и нашедшими, что диффузного брома в крови быка содержится 80%, в крови человека 60% и в крови собаки 40%.

Wikoff, Bame и Brandt (11) отмечают, что весь бром крови содержится в фильтрате, лишенном белка, и что коагулированный белок не содержит брома.

Что касается форм брома, находящегося в остальных тканях или органах, то данный вопрос также не нашел еще до сих пор исчерпывающего освещения в литературе. Zondek и Bier (12) полагают, что в гипофизе имеет место образование органически связанного брома.

Moruzzi (13) отмечает, что в крови только часть брома находится в недиффундирующей форме в отличие от гипофиза, где весь бром находится в недиффундирующей форме. Он считает, что содержание и условия связывания брома во многих других органах те же, что и в гипофизе. Во всех органах содержание брома зависит от содержания его в крови.

Цель настоящей работы состоит в установлении химического состояния брома в коре и белом веществе головного мозга (больших полушарий), т. е. в выяснении вопроса о том, в какой мере представлены различные формы брома (ультрафильтруемая и неультрафильтруемая формы) и есть ли разница в содержании брома в упомянутых частях головного мозга.

Кроме того, ставится также целью проследить, как влияет на состояние брома в коре и белом веществе введение животному бромистого натрия.

Методика

Для исследования было взято 6 собак, разделенных поровну на две группы. В первой группе нами исследовалось содержание брома у животного в нормальном состоянии, а во второй—после предварительного введения брома.

Бром собакам вводился натошак в желудок с помощью зонда в виде раствора NaBr из расчета 0,412 г элементарного брома (0,53 г безводного NaBr) на 1 кг общего веса собаки. Таким образом, бромистого натрия вводилось в общем от 4,35 до 6,17 г (вес собак колебался от 8,20 до 11,65 кг). После дачи брома собак не кормили, и через сутки животное поступало на острый опыт.

Мы определяли бром по методу Leipert и Watzlawek (14). Нами эта методика была применена не только для биологических жидкостей, как предначинали авторы, но также и для определения брома в мозговой ткани (15).

Помимо головного мозга, бром исследовался также и в крови.

Кроме того, мы производили определение сухого остатка мозговой ткани (высушиванием при 100—105° без применения вакуума), чтобы иметь возможность путем перерасчета на сухое вещество получить сравнимые цифры, так как содержание воды в разных частях мозга различно.

Перед взятием головного мозга бралась проба крови из *v. jugularis*. После этого собака обескровливалась путем промывания кровеносной системы физиологическим раствором NaCl . Для приготовления этого раствора употреблялась соль, специально очищенная от следов брома. Лишь после обескровливания, с наступлением смерти животного, брался головной мозг.

В головном мозгу как в коре, так и в белом веществе мы определяли не только общий бром, но и ультрафильтруемый бром. Для ультрафильтрации употреблялся обычный коллоидный фильтр, приготовленный путем пропитывания бумажных фильтров 4% коллоидиумом [Абкин (16)].

Разность между содержанием общего и ультрафильтруемого брома представляет собой бром, связанный с органическими веществами, молекула которых задерживается ультрафильтром.

Таким образом, применяя метод ультрафильтрации, можно установить, что бром находится в двух формах: ультрафильтруемой (ионный, электролитный бром) и неультрафильтруемой, не проходящей через ультрафильтр («органический» бром). Нельзя, однако, считать, что органически связанный бром находится исключительно только в неультрафильтруемой форме.

Возможен, конечно, переход в ультрафильтрат некоторых органических соединений брома, имеющих небольшую молекулу (например, броммасляная кислота и др.). Поэтому деление брома на неорганический и органический только на основании ультрафильтрации является условным. Но все же термины ультрафильтруемый и неультрафильтруемый дают представление о характере связи брома в исследуемом объекте. В данном случае термин неультрафильтруемый бром дает понятие о макромолекулярном органическом бrome, т. е. бrome, входящем в состав сложных коллоидных органических соединений.

Мозговая ткань, взятая для анализа, предварительно обрабатывалась соответствующим образом для получения совершенно однородной тонкой водной суспензии. Для этой цели после выделения из больших полушарий головного мозга коры и белого вещества готовилась средняя проба взятого материала. Путем тщательного размельчения мозговой ткани взятые пробы превращались в совершенно однородную кашу. Отсюда бралась навеска, около 5—7 г, и готовилась тонкая суспензия общим объемом 250 см³; из полученной таким образом суспензии бралась для анализов аликвотная часть — обычно 10 см³.

Суспензия давала явственную биуретовую реакцию. При пропускании ее через ультрафильтр получался совершенно прозрачный раствор, который уже не давал биуретовой реакции. Для ускорения ультрафильтрации суспензия предварительно подвергалась центрифугированию и затем уже для ультрафильтрации брался центрифугат. Для анализа бралось также 10 см³ ультрафильтрата и найденный бром пересчитывался на соответствующую навеску мозговой ткани.

Определение pH (по Michaelis) в ультрафильтрате как коры, так и белого вещества давало величину 7,0.

Отрицательный результат биуретовой реакции в ультрафильтрате при наличии разницы между общим бромом и ультрафильтруемым может дать указание на то, что какая-то часть брома находится в составе белковой молекулы. Не исключена, конечно, возможность связи с другими органическими веществами, например, липидами. Но вопрос о характере органически связанного брома является предметом специального исследования и не входит в задачу данной работы.

Результаты опытов

Результаты наших исследований представлены в табл. 1, 2, 4 и 5.

Из табл. 2 видно, что влажность коры головного мозга несколько больше влажности белого вещества. В коре в данном случае в среднем 79,78%, а в белом веществе 74,0% влажности.

Таблица 1. Общие данные (без бромной нагрузки)

№ собаки	Дата опыта	Возраст в годах	Пол	Общий вес собаки в кг	Вес головного мозга в г	Содержание брома в крови в мг%
1	4.X	3	♀	3,0	45,004	0,42
2	14.X	6	♂	2,99	54,974	0,61
3	21.X	1	♂	6,50	48,330	0,37
Среднее		—	—	—	—	0,46

Таблица 2

№ собаки	% влажности	% сухого вещества	Содержание брома в больших полушариях мозга в мг%						% отношение к общему брому	
			при расчете на сырое вещество			при расчете на сухое вещество			ультрафилтр.	неультрафилтр.
			общего	ультрафилтр.	неультрафилтр.	общего	ультрафилтр.	неультрафилтр.		
Кора больших полушарий										
1	79,82	20,18	1,45	0,23	1,22	7,18	1,14	6,04	15,8	84,2
2	79,50	20,50	0,94	0,20	0,74	4,58	0,97	3,61	21,3	78,7
3	80,01	19,99	2,68	0,53	2,15	13,41	2,65	10,76	19,7	80,3
Среднее . . .	79,78	20,22	1,69	0,32	1,37	8,39	1,59	6,80	18,9	81,1
Белое вещество больших полушарий										
1	75,89	24,11	1,40	0,32	1,08	5,81	1,33	4,48	22,9	77,1
2	71,64	28,36	1,24	0,41	0,83	4,37	1,44	2,93	33,0	67,0
3	74,47	25,53	3,07	1,18	1,89	12,03	4,62	7,41	38,4	61,6
Среднее . . .	74,0	26,0	1,90	0,64	1,26	7,40	2,46	4,94	31,5	68,5

Общее количество брома в среднем (при расчете на сухое вещество) больше в корковом слое, нежели в белом веществе, а именно: 8,39 мг% против 7,40 мг%. У отдельных животных эти данные колебались в коре от 4,58 до 13,41 мг% и в белом веществе от 4,37 до 12,03 мг%. Необходимо отметить, что во всех 3 опытах кора содержала больше брома, нежели белое вещество, хотя у собаки № 2 разница невелика — 0,21 мг% (4,58 — 4,37).

Ниже мы приводим данные о зольном составе серого и белого вещества мозга человека [Weil (17) и Winterstein (18)] при перерасчете на сухое вещество (табл. 3).

Из данных табл. 3 видно, что золы в сером веществе головного мозга больше, чем в белом. Установленное в нашей работе содержание брома в коре и белом веществе мозга вполне соответствует этому соотношению.

Таблица 3. Зольный состав мозговой ткани в граммах на 1 кг мозга

	Серое вещество	Белое вещество
Кальций	0,62	0,48
Марганец	1,17	0,87
Фосфор	14,30	14,12
Сера	3,35	3,08
Хлор	6,76	5,07
Натрий	12,16	7,55
Калий	20,65	11,35
Железо	0,35	0,22
Общее количество золы	59,36	42,74

Что же касается распределения форм соединений брома, то полученные нами данные свидетельствуют о противоположных соотношениях ультрафильтруемой и неультрафильтруемой форм брома в исследуемых частях головного мозга: в коре содержится меньше ультрафильтруемого брома, чем в белом веществе (1,59 мг⁰/о против 2,46 мг⁰/о), и больше неультрафильтруемого брома (6,80 мг⁰/о против 4,94 мг⁰/о). Из приведенных цифр видно, что преобладающее значение в мозговой ткани имеет органически связанный бром, причем кора содержит его больше, нежели белое вещество. При расчете процентного содержания неультрафильтруемого брома к общему его количеству в коре находится в среднем 81,1⁰/о, а в белом веществе 68,5⁰/о (рис. 1).

Интересно сопоставить полученные данные о содержании брома с влажностью коры и белого вещества. При увеличенной влажности коры по сравнению с белым веществом большая доля по распределению в нем брома падает на неультрафильтруемый бром, т. е., несмотря на более высокую влажность коры и, следовательно, меньшее количество плотных веществ по сравнению с белым веществом, в коре находится больше неультрафильтруемого брома.

Это обстоятельство позволяет предположить, что органический состав серого вещества (коры) головного мозга отличается от белого вещества по аминокислотному составу белковых соединений. В коре, вероятно, находится больше аминокислот гетероциклического типа строения (тирозин), способных, как известно, связывать бром и иод. Кроме того, по литературным данным известно, что в сером веществе преобладают белки, тогда как белое вещество мозга богаче липидами [Словцов и Георгиевская (19)].

В работе Капланского, Боровской и Будановой (20) мы находим некоторое подтверждение этого предположения о количественном различии содержания тирозина в коре и белом веществе мозга, хотя авторы не делают такого вывода. Отмеченное этими авторами, слегка пониженное содержание тирозина в белках всего мозга по сравнению с серым веществом должно быть, конечно, отнесено за счет белого вещества другой составной части мозговой ткани. При анализе отдельно серого и белого вещества эта разница по содержанию тирозина должна выступить более отчетливо.

Интересно сопоставить характер нахождения брома в мозговой ткани, в частности, в сером веществе (кора головного мозга), с другим галоидом — хлором. Последний находится в сером веществе мозга (человека) исключительно в солеобразной связи, т. е. нет органических соединений хлора [Петрунькины А. и М. (21)].

Таким образом, распределение брома в мозговой ткани отличается от распределения брома в крови. В мозговой ткани преобладает органическая форма брома. Фактически величина органически связанного брома в мозговой ткани будет еще выше, если отнести сюда некоторую долю органического брома, могущего быть в ультрафильтрате.

При введении брома в организм животного наблюдается совершенно иное соотношение ультрафильтруемого и неультрафильтруемого брома (табл. 5), именно, в коре содержится ультрафильтруемого брома значительно больше, чем в белом веществе. После бромной нагрузки ультра-

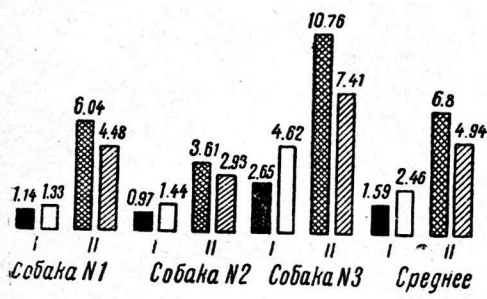


Рис. 1. Ультрафильтруемый и неультрафильтруемый бром (без бромной нагрузки) в миллиграмм-процентах на сухое вещество. ■ бром ультрафильтруемый — кора; □ бром ультрафильтруемый — белое вещество; ▒ бром неультрафильтруемый — кора; ▨ бром неультрафильтруемый — белое вещество

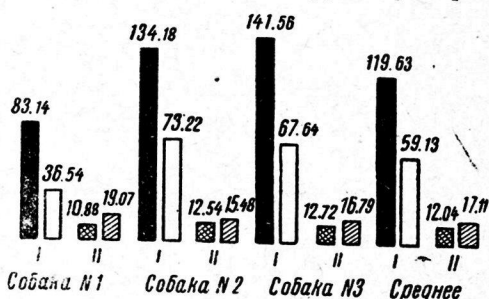


Рис. 2. Ультрафильтруемый и неультрафильтруемый бром (после бромной нагрузки) в миллиграмм-процентах на сухое вещество. Обозначения те же, что и на рис. 1

фильтруемого брома в коре в среднем находится 119,63 мг%, а в белом веществе 59,13 мг%; неультрафильтруемого брома в коре 12,04 мг%, а в белом веществе 17,11 мг% (расчет на сухое вещество) (рис. 2).

Интересен факт различного увеличения брома в мозговой ткани у разных собак при одинаковой нагрузке бромом в одинаковых условиях (0,412 г брома на 1 кг веса при суточной выдержке). Так, например, в белом веществе содержание общего брома колеблется от 55,61 до 88,70 мг%, а в коре — от 94,02 до 154,28 мг%.

Таблица 4. Общие данные (с бромной нагрузкой)

№ собаки	Дата опыта	Возраст в годах	Пол	Общий вес в кг	Вес головного мозга в г	Доза брома в г на 1 кг веса	Всего введено брома в г	Расчет введенного брома на безводный NaBr	Содержание брома в крови в мг%
4	13.XI	4	♀	8,50	51,53	0,412	3,506	4,514	110,81
5	25.XI	4 1/2	♀	8,20	57,30	0,412	3,378	4,350	104,18
6	8.XII	4	♀	11,65	63,67	0,412	4,799	6,175	109,81
Среднее		—	—	—	—	—	—	—	108,26

Такое колебание относится главным образом к ультрафильтруемой форме брома, тогда как неультрафильтруемая форма брома во всех

Таблица 5

№ собаки	% влажности	% сухого вещества	Содержание брома в больших полушариях мозга в мг%						% отноше- ние к обще- му бром	
			при расчете на сырое вещество			при расчете на су- хое вещество			ультрафилтр.	неуль- трафилтр.
			общего	ультра- филтр.	неультра- филтр.	общего	ультра- филтр.	неультра- филтр.		
Кора больших полушарий										
4	80,42	19,58	18,41	16,28	2,13	94,02	83,14	10,88	88,4	11,6
5	82,77	17,23	25,28	23 12	2,16	146,72	134,18	12,54	91,4	8,6
6	81,21	18,79	28,99	26,60	2,39	154 28	141,56	12,72	91,8	8,2
Сред- нее	81,47	18,53	24,23	22,0	2,23	131,67	119,63	12,04	90,5	9,5
Белое вещество больших полушарий										
4	69,79	30,21	16,80	11,04	5,76	55,61	36,54	19,07	65,7	34,3
5	72,92	27,08	24,02	19,83	4,19	88,70	73,22	15,48	82,5	17,5
6	68,27	31,73	26,79	21 46	5,33	84,43	67,64	16,79	80,1	19,9
Сред- нее	70,33	29,67	22,53	17,44	5,09	76,24	59,13	17,11	76,1	23,9

3 опыта имеет более близкие цифры (от 10,88 до 12,72 мг% в коре и от 15,48 до 19,07 мг% в белом веществе).

Это различие в степени насыщения бромом мозговой ткани у разных собак (хотя одинаковых по возрасту), по всей вероятности, обусловливается какими-то индивидуальными отличиями опытных животных.

Данные определения брома у собак без нагрузки дают, как отмечалось выше, также некоторое колебание. Они указывают на различную «бромоемкость» мозговой ткани.

Возможно, что отмечаемые колебания в количестве брома после нагрузки в своей основе имеют различное содержание брома в мозговой ткани у животных до бромной нагрузки.

Если принять содержание ультрафильтруемой и неультрафильтруемой формы брома животных без дачи брома как в коре, так и в белом веществе за единицу, то увеличение брома против нормы после бромной нагрузки выразится следующими цифрами:

увеличение ультрафильтруемого брома в коре — в 75,2 раза;
увеличение ультрафильтруемого брома в белом веществе — в 24,0 раза;
увеличение неультрафильтруемого (органического) брома в коре — в 1,8 раза;
увеличение неультрафильтруемого (органического) брома в белом веществе — в 3,5 раза.

В противоположность ультрафильтруемой форме брома наблюдается после нагрузки большее преобладание неультрафильтруемого брома в белом веществе, нежели в коре (17,11 мг% против 12,04 мг%). Данное обстоятельство также не находит пока соответствующего объяснения.

Следует также отметить, что бромная нагрузка в значительной степени сказалась на увеличении (в 235 раз) брома в крови (108,26 мг% против нормы 0,46 мг%) (табл. 1 и 4).

Выводы

1. В мозговой ткани головного мозга собаки (кора и белое вещество больших полушарий) бром содержится в двух формах: ультрафильтруемой и неультрафильтруемой.
2. В сером веществе головного мозга (кора) общего брома содержится больше, чем в белом веществе.
3. В коре находится ультрафильтруемого брома меньше, чем в белом веществе. Относительно неультрафильтруемого брома наблюдается обратное соотношение — его в коре больше, чем в белом веществе.
4. Отличие коры и белого вещества по распределению формы брома выражается следующим соотношением: в коре находится ультрафильтруемого брома 18,9% общего его количества и неультрафильтруемого 81,1%, а в белом веществе — ультрафильтруемого 31,5% и неультрафильтруемого 68,5%.
5. Бромная нагрузка (0,412 г брома на 1 кг веса) вызывает через сутки более значительное увеличение ультрафильтруемого брома в коре, чем в белом веществе. Отмечается также незначительное увеличение неультрафильтруемого брома, причем в коре меньше, чем в белом веществе.
6. Наблюдаемая различная «бромоемкость» мозговой ткани у отдельных животных относится как к ультрафильтруемой, так и к неультрафильтруемой форме брома.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bernhardt u. Ucko, *Biochem. Ztschr.*, 155, 174, 1925; 170, 459, 1926. — Тохорéus, *Arch. exp. Path. u. Pharmac.*, 149, 263, 1930. — 3. Zondek u. Bier, *Klin. Wschr.*, 1, 633, 759, 1932. — 4. Leipert, *Biochem. Ztschr.*, 280, 416, 1935. — 5. Ucko, *Biochem. Journ.*, 30, 992, 1936. — 6. Neufeld, цит. по реф. *Ber. ges. Physiol. u. exp. Pharm.*, 102, 6, 1937. — 7. Садиков, Курс биологической химии, стр. 26, 1935. — 8. Doering, *Biochem. Ztschr.*, 291, 81, 1937. — 9. Doering, *Biochem. Ztschr.*, 296, 532, 1938. — 10. Moruzzi, цит. по *Ber. ges. Physiol. u. exp. Pharm.*, 96, 565, 1936. — 11. Wikoff, Bame u. Brandt, *Journ. labor. a clinic. Medic.*, 24, 427, 1929. — 12. Zondek u. Bier, *Klin. Wschr.*, 1, 60, 1932. — 13. Moruzzi, цит. по *Ber. ges. Physiol. u. exp. Pharm.*, 100, 3, 1937; 107, 193, 1938. — 14. Leipert u. Watzlawek, *Ztschr. physiol. Chem.*, 226, 108, 1934. — 15. Шошин (в печати). — 16. Абкин, *Коллоидн. журн.*, 1, в. 6, 1936. — 17. Weil, *Ztschr. physiol. Chem.*, 89, 353, 1914. — 18. Winterstein, *Tabulae Biolog.*, 111, 527, 1926. — 19. Словцов и Георгиевская, *Русск. физиолог. журн.*, 4, 37, 1921. — 20. Капланский, Боровская и Буданова, *Арх. биол. наук*, 37, 485, 1935. — 21. Петрунькины А. и М., *Арх. биол. наук*, 38, 389, 1935.

LES DIFFÉRENTES FORMES DU BROME DANS L'ÉCORCE ET LA MATIÈRE BLANCHE DU CERVEAU DU CHIEN (BROME ULTRAFILTRABLE ET NON-ULTRAFILTRABLE)

A. F. Chochine

Laboratoire de Biochimie (Chef: Prof. V. S. Sadikov) de l'Institut de Physiologie I. P. Pavlov (Dir.: L. A. Orbeli, Membre de l'Académie) de l'Académie des Sciences de l'URSS

Le travail présenté avait pour but de mettre au clair la répartition des différentes formes du brome (brome ultrafiltrable et non-ultrafiltrable) dans l'écorce et la matière blanche du cerveau.

La recherche porta sur 6 chiens, divisés en deux groupes égaux dont l'un recevait des doses de brome, afin d'établir comment cela se répartirait dans la condition du brome dans l'écorce et la matière blanche.

On administrait le brome aux chiens à jeun par voie gastrique com-

me solution de bromure de soude, à la base de 0,412 g de Br par 1 kg de poids de l'animal. Le lendemain on sacrifiait l'animal pour l'analyse.

Pour éliminer le sang, on faisait un lavage du système circulatoire à la solution physiologique de chlorure de soude. Pour cette solution on employait du sel rigoureusement purifié de traces de brome. On ne prélevait le cerveau qu'après le saignement à blanc et la mort de l'animal.

Les données expérimentales justifient la conclusion que le brome est présent dans les tissus du cerveau du chien (écorce et matière blanche) en deux formes — comme brome ultrafiltrable et non-ultrafiltrable. Le taux global du brome dans la matière grise (écorce) est plus élevé que dans la matière blanche. L'écorce contient moins de brome ultrafiltrable que la matière blanche. Quand au brome non-ultrafiltrable, le rapport est inverse — il y en a plus dans l'écorce que dans la matière blanche. La différence entre l'écorce et la matière blanche à l'égard de la répartition des formes du brome s'exprime par les rapports suivants: l'écorce contient du brome ultrafiltrable à raison de 18,9 p. c. et du brome non-ultrafiltrable à raison de 81,8 p. c. de la quantité globale; par contre, dans la matière blanche, il y a 31,5 p. c. de brome ultrafiltrable et 68,5 p. c. de brome non-ultrafiltrable. L'administration de brome résulte, après 24 heures, en une augmentation plus considérable de la fraction ultrafiltrable dans l'écorce que dans la matière blanche. En même temps, une petite augmentation du brome non-ultrafiltrable à lieu, moins forte dans l'écorce que dans la matière blanche. Les variations individuelles de la «capacité de brome» du tissu cérébral chez les différents animaux se rapportent tant à la forme ultrafiltrable qu'à la forme non-ultrafiltrable du brome.

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОМЕТОДА LEIPERT-WATZLAWEK ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ БРОМА В ПЛОТНЫХ СУБСТРАТАХ (МОЗГОВАЯ ТКАНЬ)

А. Ф. Шошин

Из биохимической лаборатории
(зав.—проф. В. С. Садилов) Физиоло-
гического института им. акад. И. П.
Павлова (дир.—акад. Л. А. Орбели)
Академии наук СССР

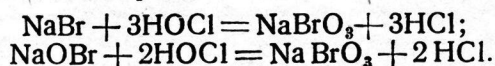
Поступила в редакцию 17.V.1939 г.

Большое физиологическое значение брома, находящегося в животном организме, вызывает необходимость иметь вполне безупречную методику, позволяющую определять очень незначительные его количества с большой точностью.

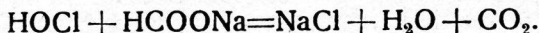
Из опубликованных за последнее время методик по определению брома останавливает внимание микрометод, предложенный Leipert и Watzlawek (1), позволяющий определять бром в биологических жидкостях (кровь, молоко, моча) с точностью до миллионных долей грамма. Сущность этого метода заключается в том, что органическое вещество исследуемого материала нацело разрушается хромовосерной кислотой в закрытом аппарате особой конструкции. При таком влажном озолении (минерализации) отдельные галоиды (хлор, бром, иод) переводятся в такое состояние, при котором они могут быть легко разделены; освобождающиеся в элементарном виде хлор и бром увлекаются током воздуха и связываются включенным на пути поглотителем — раствором едкого натра. Иод удерживается в виде иодной кислоты в жидкости для озоления. Образовавшиеся в приемнике бромид и гипобромит (NaBr , NaOBr) окисляют, далее, по ходу анализа хлорноватистой кислотой (HOCl) в бромат (NaBrO_3).

Присутствие хлора, по замечанию авторов, несколько не мешает окислению, напротив, умеренное количество гипохлорита (хлорноватистой кислоты) весьма желательно, так как делает излишним прибавление гипохлорита для окисления в бромат имеющихся бромида и гипобромида.

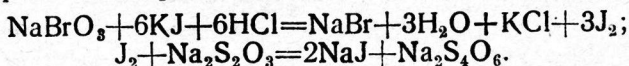
В растворе, богатом хлоридом натрия, бромид и гипобромит окисляются гипохлоритом в бромат, если перевести в свободное состояние хлорноватистую кислоту борной кислотой (или двуокисью углерода) при непродолжительном нагревании.



Избыток гипохлорита разрушается посредством формиата натрия:



Образовавшийся бромат восстанавливается в бромид при взаимодействии с иодидом калия в кислой среде. Выделившийся при этой реакции иод оттитровывается тиосульфатом, после чего делается соответствующий пересчет на бром:



Скорость образования свободного иода зависит от кислотности раствора, однако эта реакция протекает даже при минимальных количествах бромата и незначительной концентрации водородных ионов в присутствии молибдата аммония как катализатора. Согласно приведенной выше реакции восстановления бромата, незначительные количества брома образуют шестикратное количество иода и поэтому возможная ошибка снижается в 6 раз.

Для определения брома по этой методике требуется специально сконструированный авторами прибор, дающий возможность пропускать сильный ток воздуха через большое количество озолненного раствора и удерживать находящийся в наличии иод и следы образующегося хлористого хрома (CrO₂Cl₂). В оригинальной статье приводится схема этого прибора. На основании этой схемы и некоторых данных, приведенных в тексте статьи, были изготовлены приборы. Проверка изготовленных приборов, а также и освоение методики проводились с дибромтирозином.

Для этой цели приготавливался сернокислый раствор дибромтирозина определенной концентрации. Для анализа вводилось различное количество брома из расчета взятого объема раствора. Так, например:

Введено	8,2 γ брома	Найдено	7,9 γ	Разность	-0,3 γ
»	17,7 γ	»	17,4 γ	»	-0,3 γ
»	28,6 γ	»	27,5 γ	»	-1,1 γ

Данная методика предназначалась авторами для биологических жидкостей. Нам требовалось, ввиду характера нашей исследовательской работы, применить эту методику также и для плотных субстратов, в частности, для мозговой ткани.

Для определения брома в мозговой ткани по этой методике мы получали тонкую водную суспензию. Для этой цели средняя проба исследуемого вещества превращается в совершенно однородную кашцу. Очень удобно пользоваться для этого изогнутыми хирургическими ножницами. От этой кашицы берется соответствующая навеска. Взятая навеска при повторном растирании в небольшой фарфоровой ступке переносится по частям с водой в мерную колбу. Колба доливается до метки, после чего берется определенная часть для анализа.

Но можно производить определение брома непосредственно в навеске мозговой ткани, не переводя ее в водную суспензию. Для этого взятая навеска (около 0,5 г) заливается нормальным раствором NaOH в количестве 3—4 см³. Удобно производить эту операцию непосредственно в бюксе. После прибавления щелочи проба нагревается до 55°. Уже при этой температуре получается совершенно однородный раствор, который вводится для анализа через капельную воронку в сосуд для озолнения. В дальнейшем определение проводится так, как указано авторами методики. Одновременное определение брома в суспензии и непосредственно в навеске дает близкие цифры. Так, при определении общего брома в коре головного мозга собаки в водной суспензии было найдено 2,68 мг/о, а непосредственно в навеске 2,72 мг/о.

Нам кажется, что, применяя щелочь, возможно брать для анализа и более плотную ткань, чем мозговая, например, мышечную.

Для этого необходимо применить для растворения ткани в щелочи более высокую температуру, вплоть до кипения. Кроме того, прибавление щелочи ко взятой пробе может быть использовано в целях консервирования. Использование щелочи как средства, устраняющего свертывание крови, предложил в свое время Leipert в одной из своих работ (2). По нашему опыту удобно брать пробу крови в бюксе с предварительно налитым туда n/1 раствором щелочи. Взятую таким образом пробу крови в случае надобности подвергают перед анализом непродол-

жительному нагреванию, чтобы совершенно устранить могущие образоваться сгустки крови.

Применение щелочного раствора в целях получения устойчивой суспензии для определения брома было уже использовано Тохорéus (3), проводившим озоление по методу Lustig. Воздействуя щелочью (KOH) при кипячении с субстратом, он смог определять бром и в костной ткани при соответствующей ее обработке для извлечения галоидов.

Таким образом, на основании нашего опыта с мозговой тканью и учитывая возможность применения щелочи для получения тонкой суспензии любых тканей, метод Leipert-Watzlawek может иметь применение не только для биологических жидкостей. Возможно применять его и для плотных субстратов (напр., мозговая ткань), проводя соответствующую обработку ткани для получения совершенно однородной суспензии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Leipert u. Watzlawek, Ztschr. physiol. Chem., 226, 108, 1934.—2. Leipert, Biochem. Ztschr., 280, 416, 1935.—3. Тохорéus, Arch. exper. Path., 149, 263, 1930.

APPLICATION DE LA MICROMÉTHODE DE LEIPERT-WATZLAWEK POUR LA MICRO-DOSAGE DU BROME DANS LES MATIÈRES SOLIDES (TISSU CÉRÉBRAL)

A. F. Chochine

Laboratoire de Biochimie (Chef: Prof.
I. S. Sadikov) de l'Institut de Physio-
logie I. P. Pavlov (Dir.: L. A. Orbeli,
Membre de l'Académie) de l'Académie
des Sciences de l'URSS

РАСХОД ЭНЕРГИИ ПРИ СПОРТИВНОМ ПЛАВАНИИ

Е. А. Эголинский

Из физиологического отделения
(зав.—проф. А. Н. Крестовников)
Ленинградского научно-исследова-
тельского института физической
культуры

Поступила в редакцию 17.XI.1938 г.

Первые исследования газообмена и расхода энергии при плавании принадлежат Zuntz, Lewy, Miller и Caspari (1), указавшим, что быстрое плавание должно быть отнесено к категории напряженных физических упражнений и что обмен при плавании на 18,5% выше, чем при быстром горном восхождении. Получив в покое на воде потребление O_2 в 426 см^3 в 1 минуту, эти авторы при быстром плавании и увеличении легочной вентиляции почти вдвое определяли потребление O_2 в 2317 см^3 (увеличение почти в 5,5 раза).

Позднее René Dubois-Reymond (2), исходя из расчета общей работы при умеренно быстром плавании на груди, производил вычисление количества кислорода, необходимого для этой работы. Совершаемую при плавании работу он принимает равной 23 кг на 1 м пути в 1 секунду. Считая коэффициент полезной деятельности работы равным 30%, Dubois-Reymond потребление O_2 при этом определяет в 2500 см^3 в 1 минуту.

Более подробное и углубленное исследование по энергетике плавания произвели Liljestrand и Stenström (3). На 9 испытуемых они поставили большое количество опытов с изучением газообмена при плавании с различной скоростью и различными способами. Чтобы более точно определить энергетический расход при плавании, ими был изучен газообмен в покое на суше и в ванне. Наиболее ценными являются опыты с изучением длительного (около 1 часа) плавания. Несмотря на некоторые методические недочеты, исследования Liljestrand и Stenström являются наиболее существенным вкладом в дело изучения расхода энергии при плавании. В своей работе авторы указывают, что при плавании на груди со скоростью около 50 м в 1 минуту потребление O_2 с 800 см^3 повышалось у одного из подопытных до 2800 см^3 в 1 минуту, частота дыхания увеличивалась до 30 в 1 минуту, а легочная вентиляция доходила до 60 л в 1 минуту.

В последнее время Фомичев (4), изучая расход энергии при спортивном плавании на 50 м в связи с процессом тренировки, нашел, что при одинаковой скорости плавание стилем «кроль» требует большего расхода энергии по сравнению со стилем «брасс». Вероятной причиной разницы автор считает затруднение в дыхании при плавании стилем «кроль». Кислородный запрос при этом у молодого тренированного «бассиста» среднего веса было около 3000 см^3 в 1 минуту, у «кролиста» при той же скорости плавания — около 4000 см^3 в 1 минуту. У нетренированных при той же дистанции потребление O_2 было около 5500 см^3 в 1 минуту для стиля «брасс» и около 7000 см^3 в 1 минуту для стиля «кроль».

Мы поставили своей задачей изучить расход энергии при спортивном плавании на 100 и 400 м двумя наиболее употребительными стилями: «кроль» и «брасс». Одновременно были поставлены опыты по изучению газообмена при стоянии в воде по пояс и по горло и при спокойном поддержании тела на воде без поступательного движения.

Методика

Опыты были поставлены на 2 тренированных пловцах, из которых один был специалистом по плаванию стилем «брасс», другой — стилем «кроль»¹. Оба пловца, кроме своего основного стиля, технически владели и другим стилем, т. е. «бассист» — стилем «кроль», «кролист» — стилем «брасс». Это позволило

¹ «Бассист» М. Ш., 21 года, вес 80,3 кг, рост 179,5 см.

«Кролист» Л. М., 19 лет, вес 85,5 кг, рост 182,5 см.

на каждом из них изучить течение энергетических процессов при плавании обоими стилями (имея в виду их специальную тренированность только в одном). Исследование проводилось в закрытом плавательном бассейне в Ленинграде, где метеорологические условия мало изменчивы.

Расход энергии изучался путем определения газообмена по Douglas-Haldane. Забор проб выдыхаемого воздуха производился в покое (лежа на кушетке), во время плавания и в течение восстановительного периода (также лежа). Значительные затруднения представлял забор проб во время самого плавания, так как испытуемые должны были погружать голову в воду и энергично двигаться (особенно при плавании стилем «кроль»). Поэтому с помощью специальных повязок и бинтов на лице испытуемого герметически укреплялась газообменная маска, от которой отходили два легких гофрированных шланга. Один шланг длиной в 80 м служил для вдыхания атмосферного воздуха, через другой шланг длиной в 3 м выдыхаемый воздух поступал в мешок, находящийся на спине экспериментатора. Над головой пловца шланги укреплялись так, что даже при погружении лица в воду конец дыхательного шланга оставался снаружи, обеспечивая при дыхании свободный доступ воздуха под маску. По данному сигналу испытуемый начинал плавание с максимальной скоростью, не удаляясь далеко от борта бассейна, по которому двигался экспериментатор с мешком за спиной, поддерживая в удобном положении длинный выдыхательный шланг. Закончив плавание, испытуемый быстро выходил из бассейна и ложился на приготовленную здесь же кушетку, где продолжался дальнейший забор проб восстановительного периода. Чтобы избежать излишнего затруднения для дыхания, длинный шланг, употреблявшийся во время плавания, быстро заменялся обычным коротким.

Стояние в воде и поддержание тела на воде

В табл. 1 приведены средние данные о потреблении O_2 и расходе энергии при стоянии в воде по пояс и по шею и при поддержании тела на воде (с совершением минимальных движений, препятствующих погружению). Эти данные представляют интерес для сравнения расхода энер-

Таблица 1

№ по порядку	Инициалы подопытного субъекта	Стояние на суше			Стояние по пояс в воде			Стояние по шею в воде			Поддержание тела на воде		
		за 1 минуту			за 1 минуту			за 1 минуту			за 1 минуту		
		потребление O_2 в $см^3$	вентиляция в л	расход в 6 кал.	потребление O_2 в $см^3$	вентиляция в л	расход в 6 кал.	потребление O_2 в $см^3$	вентиляция в л	расход в 6 кал.	потребление O_2 в $см^3$	вентиляция в л	расход в 6 кал.
1	М.Ш.	370,0	10,0	1,85	470,0	14,0	2,35	555,0	15,6	2,77	1815,0	42,5	8,65
2	Л.М.	260,0	8,8	1,31	344,0	18,1	1,73	381,5	24,5	1,92	2018,0	42,5	11,30
3	Н.Б.	263,0	9,4	1,30	401,0	11,5	2,00	407,0	11,3	2,02	—	—	—
4	И.И.	202,0	6,3	1,00	265,0	6,8	1,31	453,0	9,8	1,74	—	—	—
Увеличение в % по сравнению со стоянием на суше		100,0	100,0	—	135,0	147,0	—	155,0	178,0	—	608,0	453,0	—

гии при формах покойного пребывания в воде и при быстром поступательном плавании. Часть этих опытов была поставлена на 4 испытуемых. Пребывание в воде по пояс увеличивает потребление O_2 в среднем на 35%, пребывание в воде по шею — на 55%. Поддержание тела на воде требует уже значительных расходов, более чем в 5 раз превышающих потребности спокойного стояния на суше и составляющих 22 — 27% общей потребности скоростного плавания.

Плавание на 100 м

Газообменные пробы при изучении 100-метрового плавания брались в следующем порядке: а) в покое — лежа (5 минут); б) во время плавания (1 мин. 25 сек. — 1 мин. 35 сек.); в) в периоде восстановления (через 3, 5, 10 минут и остальное время до конца относительной стабилизации пульса). Одновременно с забором проб подсчитывались пульс и дыхание. На обоих пловцах были поставлены опыты по плаванию стилями «басс» и «кроль»; это дало возможность сравнить оба стиля на одном и том же испытуемом.

В табл. 2 приведены средние данные о дополнительном (сверх уровня покоя) потреблении O_2 во время работы и восстановления и общем O_2 -запросе при плавании обоими стилями. Кислородный запрос при плавании на 100 м в среднем для обоих стилей составляет 11 875 см³ для одного (М. Ш.) и 12 350 см³ для другого (Л. М.) пловца. По отдельным стилям 12 230 см³ для стиля «басс» и 11 517 см³ для стиля «кроль» (на 5,8% меньше) у пловца М. Ш. и 13 120 см³ для стиля «кроль» и 11 575 см³ для стиля «басс» (на 10,1% меньше) у пловца Л. М. Это объясняется, повидимому, тем, что прохождение дистанции привычным стилем происходит относительно быстрее, в результате чего и расход энергии больше. При прохождении дистанции стилем «басс» у обоих пловцов — относительно большее потребление O_2 во время работы и меньшее в периоде восстановления. Это может зависеть от более благоприятных условий дыхания при плавании стилем «басс», когда голова пловца не погружается в воду.

Дополнительный расход для обоих стилей составляет 59,5 б. кал. для пловца М. Ш. и 62,0 б. кал. для пловца Л. М. Расход кислорода на 1 кг веса тела очень близок у обоих пловцов при плавании привычным стилем и равен 153—154 см³ (0,75—0,75 б. кал.).

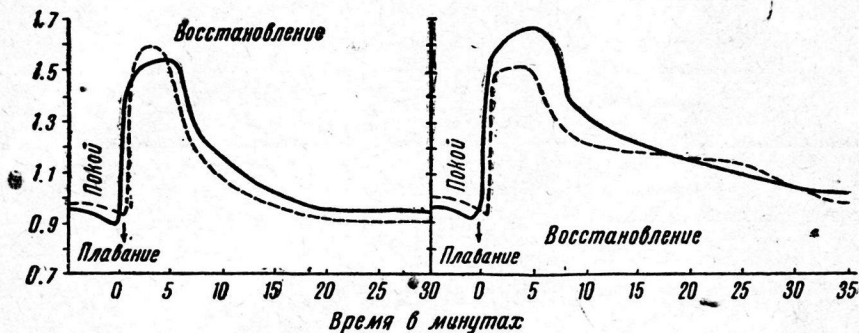
В табл. 2 приведены данные о дополнительной легочной вентиляции во время плавания и восстановления. Как оказалось, плавание привычным для пловца стилем, в котором он тренирован, сопровождается меньшей легочной вентиляцией и, как уже указывалось, большим потреблением O_2 . Сопоставление данных об увеличении потребления O_2 и увеличении легочной вентиляции во время плавания по сравнению с покоем показывает, что прямой пропорциональности между этими величинами нет. Однако между ними имеется определенная зависимость.

Средние данные	Стиль плавания	М. Ш.	Л. М.
1. Увеличение потребления O_2	«Басс»	В 8,3 раза	В 7,8 раза
	«Кроль»	» 7,5 »	» 11,4 »
2. Увеличение легочной вентиляции . .	«Басс»	» 5,0 раз	» 6,5 »
	«Кроль»	» 4,5 »	» 8,0 »

Таблица 2. Средние данные дополнительного (сверх обмена покоя) потребления O_2 , дополнительной легочной вентиляции и расхода энергии при работе и восстановлении при плавании на 100 и 400 м

Инициалы пловца	Стиль плавания	Дистанция в м	Покой за 1 минуту		Длительность				Дополнительное потребление O_2 в $см^3$				Дополнительная вентиляция в л			Расход энергии в 6. кал.		
			потребление O_2 в $см^3$	вентиляция в л	плавание		восстановления		плавание	восстановление	сумма	коэффициент O_2 -задолжен.	плавание	восстановление	сумма	плавание	восстановление	сумма
М. Ш.	«Брасс» . . .	100	—	—	1 мин.	27 сек.	26 мин.	0 сек.	4000	8230	12230	67,2	55,0	335,0	390,0	19,4	41,0	60,4
	«Кроль» . . .	100	—	—	1 »	30 »	24 »	0 »	3647	7870	11517	68,4	62,0	410,0	472,0	18,2	40,5	58,7
	Среднее для обоих стилей . . .	100	284,0	11,5	1 »	29 »	25 »	0 »	3824	8050	11875	67,8	58,5	373,0	431,0	18,8	40,7	59,5
Л. М.	«Брасс» . . .	100	—	—	1 »	37 »	30 »	0 »	3618	7957	11575	68,8	62,5	380,0	442,0	18,0	40,5	58,5
	«Кроль» . . .	100	—	—	1 »	25 »	30 »	0 »	3530	9590	13120	73,1	55,8	343,0	398,0	17,5	48,0	65,5
	Среднее для обоих стилей . . .	100	261,0	6,7	1 »	31 »	30 »	0 »	3575	8773	12350	70,9	59,0	362,0	421,0	17,8	44,2	62,0
М. Ш.	«Брасс» . . .	400	—	—	6 »	25 »	50 »	0 »	16420	8890	25310	35,0	311,0	286,0	597,0	82,0	45,0	127,0
	«Кроль» . . .	400	—	—	6 »	25 »	50 »	0 »	18590	12707	31297	46,0	328,0	576,0	904,0	93,0	65,0	158,0

Дыхательный коэффициент (Д—К) (см. рис.) во время плавания у обоих пловцов в большинстве случаев понижался. Понижение чаще соответствует более высокому дыхательному коэффициенту; если же до работы дыхательный коэффициент был низок, то при плавании наблюдалось его повышение. На эти соотношения между дыхательным коэффициентом покоя и работы указывают Krogh и Lindhard (5). В первые 3—6 минут периода восстановления после плавания дыхательный коэффициент достигает наибольших величин, далеко превышающих 1,0. Длительное время задерживающийся на высоком уровне дыхательный коэффициент свидетельствует о глубоких сдвигах в химизме крови, возни-



Колебания дыхательного коэффициента при плавании на 100 м (слева) и на 400 м (справа). Средние величины для обоих стилей. Сплошная линия — у «бассиста» М. Ш.; пунктирная линия — у «кролистка» Л. М.

кающих в результате скоростного плавания. Наивысший дыхательный коэффициент у пловца М. Ш. был 1,71, у Л. М. — 1,65; наибольшая легочная вентиляция во время плавания доходила в отдельных опытах до 60 л в 1 минуту (М. Ш.).

Расход O_2 на 1 кг веса тела и 1 м пути очень близок у обоих пловцов (1,53 cm^3 у М. Ш. и 1,54 cm^3 у Л. М.); средние данные для обоих стилей также близки. Если принять во внимание, что при приблизительно равных затратах на продвижение 1 кг веса тела пловца дистанция стилем «кроль» проходит в более короткий срок, можно считать, что стиль «кроль» в энергетическом отношении является более экономным и эффективным.

Плавание на 400 м

Плавание на 400 м с максимальной скоростью считается в спортивной практике делом, требующим большого напряжения сил организма, так как в этом случае нужны одновременно и быстрота движений, и выносливость.

Принимая во внимание, что забор газообменных проб в течение всего времени плавания был невозможен (пловцу крайне трудно плыть в маске всю дистанцию), в мешки Дугласа собирался выдыхаемый воздух во время прохождения первых и последних 100 м из 400-метрового пути. Был поставлен ряд опытов, когда пробы собирались в мешки в течение первых 100 м пути, далее пловец быстро освобождался от газообменной маски и продолжал плыть. По окончании дистанции исследовался восстановительный период. В ряде других опытов пловец плыл без маски первые 300 м, после чего быстро надевалась маска и в мешки собирался выдыхаемый воздух во время прохождения последних 100 м пути, а также в весь восстановительный период. Расход энергии

за средние 200 м пути, приравнивался к последним 100 м. Недостающие пробы рассчитывались по данным других ближайших опытов.

В течение 6 мин. 25 сек. плавания, когда проходится дистанция в 400 м, пловцы совершают работу, требующую в среднем сверх обмена покоя 25,3—31,3 л O_2 ; чистый расход энергии при этом равен 127—158 б. кал. (табл. 2). Данные о расходе O_2 на 1 кг веса тела показали, что затраты при прохождении 400-метровой дистанции в отличие от плавания на 100 м несколько различны у обоих пловцов. «Брассист» расходовал 316, «кролист» — 368 $см^3$ на 1 кг веса тела (табл. 3). Наивысшее минутное потребление O_2 достигало 2810 $см^3$ (пловец М. Ш.), превышая обмен покоя более чем в 9,5 раза; у второго пловца (Л. М.) оно было еще большим, доходя до 3132 $см^3$.

Дыхательный коэффициент, так же как и при плавании на 100 м, при работе чаще понижался сравнительно с покоем; в периоде восстановления в первые 4—6 минут он достигал своего максимума (1,73—1,46).

Таблица 3

Инициалы пловца	Стиль плавания	Дистанция (в метрах)	Время прохождения дистанции		Скорость в м/мин.	Расход O_2 в $см^3$ на 1 кг веса в 1 м пути
М. Ш.	«Брасс»	100	1 мин.	27 сек.	69,0	1,53
	«Кроль»	100	1 »	30 »	66,7	1,44
	Среднее для обоих стилей	—	1 »	29 »	67,0	1,49
Л. М.	«Брасс»	100	1 »	37 »	61,8	1,36
	«Кроль»	100	1 »	25 »	70,8	1,54
	Среднее для обоих стилей	—	1 »	31 »	66,4	1,45
М. Ш.	«Брасс»	400	6 »	25 »	62,34	0,80
Л. М.	«Кроль»	400	6 »	25 »	62,34	0,97

В табл. 3 приведены данные о расходе O_2 на 1 м пути и 1 кг веса тела. Эти величины несколько различны у обоих пловцов и относительно ниже тех, которые были получены при плавании на 100 м. Разница в первую очередь зависит, повидимому, от большей скорости работы при прохождении меньшей дистанции.

Выводы

1. При стоянии в воде по пояс увеличивается, по сравнению со стоянием на суше, потребление O_2 в среднем на 35%; при стоянии в воде по шею — на 55%. Поддержание тела на воде, сопровождающееся совершением незначительных движений, препятствующих погружению, увеличивает уже значительно потребление O_2 и составляет 22—27% расхода, идущего на обеспечение скоростного плавания.

2. Средние величины кислородного запроса при скоростном плавании на 100 м стилями «кроль» и «брасс», по нашим опытам, составляют 11 875 $см^3$ (пловец М. Ш.) и 12 350 $см^3$ (пловец Л. М.). Из общей суммы O_2 -запроса 32,2—29,1% удовлетворяются во время плавания, 67,8—70,9% — в периоде восстановления. При плавании стилем «брасс» у обоих пловцов потребление O_2 во время самой работы выше (возможно, что более благоприятными оказываются условия дыхания). Средний

расход при плавании на 100 м для обоих стилей составляет 59,2 — 62,0 б. кал.

3. Длительность восстановительного периода после 100-метрового плавания у тренированных пловцов составляет 25—30 минут, но и после этого времени достигнутый уровень обмена часто является более высоким, чем исходный.

4. Отношения между увеличением потребления O_2 и повышением легочной вентиляции при скоростном плавании не выражаются линейной зависимостью. Потребление O_2 нарастает значительно энергичнее, чем увеличивается легочная вентиляция.

Во время плавания дыхательный коэффициент чаще понижается; в первые 3—6 минут восстановления он очень высок (1,65—1,71). Длительная задержка дыхательного коэффициента на высоком уровне свидетельствует о значительной тяжести работы при спортивном плавании.

5. Хотя расход энергии на 1 м пути и 1 кг веса тела при плавании на 100 м обоими исследованными стилями близок один к другому, однако стиль «кроль» является более экономным, так как при нем достигается большая скорость плавания.

6. Средние величины O_2 -запроса при скоростном плавании на 400 м стилями «кроль» и «брасс», по нашим опытам, составляют 25 300 см³ (М. Ш.) и 31 300 см³ (Л. М.). Из общей суммы O_2 -запроса 65—60% удовлетворяются во время плавания, 35—40% — в периоде восстановления. Средний расход составляет 127 — 158 б. кал.

7. Длительность восстановительного периода при плавании на 400 м у тренированных пловцов превышает 50 минут. Характер колебаний дыхательного коэффициента подобен тому, как и при 100-метровом плавании.

ЛИТЕРАТУРА

1. Zuntz, Lewy, Muller u. Caspari, Hohenklime u. Bergwanderungen 1906.—2. Du Bois-Reymond R., Arch. Anat. u. Physiol., 29, 140, 1904.—3. Liljestrand u. Stenström, Skandin. Arch. Physiol., 39, 22, 1920.—4. Фомичев А., Теория и практ. физич. культуры, 1, 20, 1938.—5. Krogh u. Lindhard, Journ. Physiol., 53, 431, 1920.

DER ENERGIEAUFWAND BEI SPORTMÄSSIGEM SCHWIMMEN

E. A. Egolinsky

Aus der physiologischen Abteilung
(Vorst.: Prof. A. N. Krestownikoff) des
Forschungs-Instituts f. Körperkultur,
Leningrad

ХРОНИКА

ШЕСТОЕ СОВЕЩАНИЕ ПО ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМ ПРОБЛЕМАМ

Отделением биологических наук Академии наук СССР было создано в Ленинграде с 10.XII по 12.XII.1939 г. очередное, шестое, совещание по физиологическим проблемам.

В работах совещания принял участие ряд виднейших физиологов нашей страны: академики И. С. Беритов (Бериташвили), Л. А. Орбели, А. А. Ухтомский, Л. С. Штерн, члены-корреспонденты Академии наук Э. А. Асратян, Х. С. Коштойанц, профессора К. М. Быков, А. Г. Иванов-Смоленский, П. С. Купалов и др. Всего состоялось 6 заседаний, на которых было заслушано 18 докладов по вопросам физиологии нервной системы и по проблеме гуморальной передачи нервного возбуждения.

Совещание открылось докладом акад. И. С. Беритова «О процессах возбуждения, торможения и облегчения в спинном мозгу». Докладчиком были сообщены результаты исследований, проведенных им и его сотрудниками на протяжении последних 2 лет с целью более глубокого изучения механизма деятельности спинного мозга. Опыты велись на люмбальных препаратах лягушки, кролика, кошки, а также на нормальных животных. Изучалась рефлекторная иннервация антагонистических мышц колена методом раздражения чувствительных нервов, задних корешков и поверхности мозга. Показано, что возбуждение распространяется в спинном мозгу по определенным нервным путям, в первую очередь соответственно анатомической близости тех или других элементов. При раздражении значительной силы могут наблюдаться извращение рефлекторных реакций, а также передача возбуждений к двигательным нейронам противоположной половины мозга. Эти перекрестные эффекты оказываются всегда слабее неперекрестных. Тот факт, что при раздражении задних корешков отдельным индукционным ударом наступает сокращение обеих антагонистических мышц, в то время как тетаническое раздражение производит более или менее реципрокные эффекты, может свидетельствовать о том, что отдельные корешковые импульсы возбуждают двигательные нейроны, помимо промежуточных нейронов. Последние приходят в активное состояние лишь под влиянием тетанических раздражений, подавляя тем самым непосредственное некоординированное возбуждение двигательных нейронов. В то же время торможение возникает в спинном мозгу при каждом возбуждении афферентных волокон тетаническим или одиночным раздражением. Это может наблюдаться уже при подпороговых раздражениях, когда нет видимых на-глаз эффектов. Нарастая по мере усиления возбуждения, торможение может при известных условиях преодолевать возбуждение. Анатомический субстрат для проведения возбуждения и для торможения не является одним и тем же. На основании полученных данных И. С. Беритов развивает высказанное им ранее положение о тормозящей функции нейропиля. Активное состояние нейропиля обуславливает торможение как близлежащих нервных клеток, так и аксонов, и промежуточных двигательных нейронов. Показателем активного состояния, в которое приходит нейропиль, т. е. синапсы и дендритное сплетение, само по себе не проводящее возбуждения, являются медленные изменения электрического потенциала, которые можно обнаружить при отведении от корешков и от поверхности мозга. Эти медленные токи нейропиля, распространяясь внутри мозга по межтканевой жидкости, действуют на находящиеся здесь нервные клетки и аксоны аналекторотонически, вызывая понижение возбудимости; т. е. торможение. Облегчение в спинном мозгу может возникать как в результате возбуждения, так и под влиянием торможения. В последнем случае оно может быть понято как результат быстрого прекращения нейропильного тока, вызывающего торможение.

Следующий доклад И. С. Беритова и А. Бакурадзе был посвящен вопросу «О действии химических веществ на спинной мозг». Испытывалось действие различных веществ, в первую очередь ацетилхолина и никотина, на люмбальных препаратах как методом локального приложения, так и путем обливания мозга. Было установлено, что при приложении ацетилхолина к одному сегменту с дорсолатеральной поверхности наблюдаются те же реакции, как и при раздражении соответствующего заднего корешка. Однако при повторном приложении ацетилхолина перестает вызывать рефлекторные реакции, не изменяя в то же время возбудимости. Эти же данные были установлены в общих чертах как в отношении никотина, так (с некоторыми изменениями) и в отношении других веществ (KCl, NaBr). Авторы рассматривают наблюдавшиеся явления как специфическую адаптацию нервных элементов спинного мозга к соответ-

ствующему химическому раздражению и высказываются против теории гуморальной передачи нервного возбуждения, считая, что если последнее передавалось бы в центральную нервную систему посредством выделения нервными окончаниями ацетилхолина, то были бы невозможны длительное течение рефлекторных актов и их многократное повторение.

Н. Н. Дзидзишвили в докладе «О влиянии экстероцептивных раздражений на двигательные реакции кролика» показал, что в опытах на нормальных животных механическое раздражение самых различных областей кожной поверхности вызывает угнетение или полное исчезновение двигательной реакции в ответ на основное раздражение, которое сменяется в дальнейшем энергичным движением. Последнее можно рассматривать как внешнее проявление облегчения. Те же явления в смене фаз торможения и облегчения можно наблюдать и при раздражении терморецепторов. В то же время раздражение филогенетически более молодых рецепторных органов (зрения и слуха) действует усиливающим образом, что должно быть связано с иррадиацией возбуждения из кортикальных областей на нисходящие пути. Докладчик интерпретирует полученный им материал с точки зрения нейропильной теории торможения.

Сообщения школы И. С. Беритова вызвали большой интерес. В ряде выступлений (проф. Купалов, акад. Штерн, проф. Макаров и др.) были отмечены принципиальная важность и большое значение представленных работ, освещающих сложнейшую проблему функциональной структуры и механизма нервной деятельности под новым углом зрения. Вместе с тем указывалось на возможность иной интерпретации полученных данных (Юньев, Новикова), на возможную зависимость их от ряда методических условий (Росин) и пр.

Следующее заседание началось с доклада акад. Л. С. Штерн: «Непосредственное воздействие на вегетативные центры путем введения симпатико- и парасимпатикотропных веществ в спинномозговой канал, в частности, в желудочки мозга». Произведенное в лаборатории докладчика изучение действия ряда веществ на центральную нервную систему показало, что эффект, вызванный тем или иным веществом, оказывается различным не только количественно, но и качественно, в зависимости от того, вводится ли это вещество в общую циркуляцию или же непосредственно в спинномозговую жидкость, в частности, в желудочки мозга. Это различие в эффектах наблюдается как при введении веществ, не входящих в состав спинномозговой жидкости, так и при введении веществ, являющихся составной частью крови и ликвора. Уменьшение или увеличение концентрации этих веществ в спинномозговой жидкости сопровождается изменением функционального состояния как анимальной, так и вегетативной нервной системы. Многочисленными опытами установлено, что изменение электролитного состава спинномозговой жидкости введением минимальных количеств ионов калия сопровождается симпатикотонической реакцией, т. е. прямой обратной той, которая имеет место при введении этого вещества в общую циркуляцию. Обратный же эффект наблюдается при введении кальция и некоторых других симпатико- и парасимпатикотропных веществ (инсулин, адреналин и др.).

Таким образом, создается, по мнению докладчика, возможность непосредственным введением активных веществ в желудочки мозга оказать влияние на соответствующие вегетативные центры, изменяя их степень реактивности и возбудимости во всех тех случаях, когда это оказывается необходимым, не вызывая в то же время антагонистической реакции со стороны периферической части соответствующей вегетативной нервной системы.

Г. Н. Кассиль, Т. Т. Плотицина и Е. М. Беркович сообщили «О влиянии метаболитов щитовидной железы на животный организм при введении их в желудочки мозга». Установлено, что действие метаболитов щитовидной железы (тироксина) при введении их в желудочки мозга значительно отличается от их действия при введении в кровь. У подопытных животных наблюдается резкое угнетение центральной нервной системы, напоминающее в некоторых случаях ступорозное состояние. В то же самое время все энергетические процессы (основной обмен) резко возрастают, что может быть объяснено центральным действием тирокина. Введение тирокина, а также пересадка щитовидной железы в желудочки мозга по своему действию напоминают парентеральное введение инсулина. Наблюдается также образование в спинномозговой жидкости каких-то новых, биологически активных веществ, способных вызывать снижение сахара в жидких средах организма и по своей природе не являющихся ни инсулином, ни ацетилхолином.

Я. А. Росин, Э. С. Локшина и Е. М. Кричевская в докладе «Влияние вегетативной нервной системы на метаболиты мозга» сообщили, что биологические свойства метаболитов мозга меняются при изменении тонуса вегетативной нервной системы. Последнее достигалось исключением сосудистых рефлексогенных зон, интравенозным введением адреналина, тирокина (для возбуждения симпатической нервной системы) или раздражением сосудистых рефлексогенных зон, центрального конца блуждающего нерва, введением инсулина (для возбуждения

парасимпатической системы). При воздействии на симпатическую нервную систему тироксина и адреналина симпатикомиметическое действие крови в спинномозговой жидкости на изолированное сердце лягушки усиливалось. При выключении сосудистых рефлексогенных зон наблюдалось усиление симпатикомиметического действия как артериальной, так и венозной крови. При повышении тонуса парасимпатической системы оказывалось повышенным парасимпатикомиметическое действие крови и спинномозговой жидкости. Авторы объясняют механизм наблюдавшихся явлений сложным взаимодействием гуморальных и нервных влияний в органах и в центральной нервной системе.

Третье заседание открылось докладом проф. Х. С. Коштойнца «О путях образования и распада химических факторов нервного процесса». На основании новейших литературных данных и собственных экспериментальных исследований, а также исследований своих сотрудников докладчик высказал ряд имеющих важное общепатологическое значение соображений в пользу представления о том, что образование химически активных веществ не является специфическим явлением, характерным только для нервного возбуждения, а может иметь место и при других видах возбуждения, как, например, при возбуждении яйцеклетки сперматозоидом, а также при искусственной активизации яйца. Вещества, образующиеся в этих случаях, могут оказывать существенное влияние на рост и дробление клеток; таким образом, возбуждение, исходящее от нервной системы, по мысли докладчика, является лишь частным случаем общих форм возбуждения, возникающих в процессе эволюции. Образование ацетилхолиноподобных веществ связано с наличием холина и специфических продуктов распада углеводов. Оно наблюдается у бактерий, что, однако, не противоречит представлению об известной специфичности этого медиатора. Докладчик исходит из положения о том, что химические факторы нервного возбуждения образуются в текущих процессах клеточного распада веществ. При нарушении нормального хода этого распада, вызванном различными веществами, могут наблюдаться нарушение нормального хода образования химических факторов нервного процесса и нарушение передачи нервного возбуждения. Образование холиноподобных веществ и холинэстеразы находится в тесной связи с наличием и степенью активности нервной системы.

Интересное сообщение Х. С. Коштойнца подверглось оживленному обсуждению. В ряде высказываний некоторые положения докладчика были подвергнуты критике. И. С. Беритов высказался против широкого обобщения гуморальной природы нервного возбуждения с другими процессами. Д. Н. Насонов и Л. С. Штерн указали на необходимость уточнить понятие «возбуждение» в приложении к клеточным элементам тканей. С. П. Нарикашвили подчеркнул желательность использования осциллографической методики при подобных исследованиях.

На этом же заседании был заслушан ряд сообщений из лабораторий акад. Л. А. Орбели, являющихся разнообразной экспериментальной иллюстрацией тех представлений о ходе эволюции нервно-мышечной системы, которые Л. А. Орбели были высказаны несколько лет назад.

А. Г. Гинединский, Р. Г. Лейбсон, Н. И. Михельсон, Е. Ю. Ченькаева и Н. М. Шамарина в докладе «Мионевральная субстанция с точки зрения теории о химическом факторе в проведении нервного импульса» привели данные, свидетельствующие о более высоком содержании холинэстеразы в водных вытяжках мышц эмбриона и «тонических» мышцах холоднокровных и теплокровных животных по сравнению с такими же вытяжками «нетонических» мышц взрослого животного. Вместе с тем обнаружено, что «нетонические» мышцы легко впадают под влиянием эзерина в пессимальное торможение, тогда как «тонические» мышцы этой реакции не обнаруживают. Сопоставляя эти особенности, авторы высказывают предположение, что одним из признаков, характеризующих периферическую часть нервно-мышечного комплекса, является степень дифференцировки нервно-мышечного волокна на рецептивный и сократительный субстраты. Эта дифференцировка происходит под контролем нервной системы и свойственна в более высокой степени «нетоническим» мышцам. Перерезка и последующее перерождение двигательного нерва возвращают эти мышцы к «тоническому» типу не только в отношении скорости сократительного акта и в отношении чувствительности к ацетилхолину, но и в отношении содержания холинэстеразы. На основании полученного фактического материала авторы делают предположение, что одним из признаков эволюционного процесса в локомоторной функции является «пространственная ограниченность» мионевральной субстанции. Богато насыщенный фактами доклад А. Г. Гинединского был заслушан совещанием с большим вниманием.

А. Т. Худорожева в развитие своих предыдущих опытов сделала доклад на тему «Функциональные свойства мышц языка при регенерации п. hypoglossi». Исследовались функциональные особенности мышц языка в процессе дегенерации и последующей регенерации двигательного нерва. Оказалось, что на протяжении первых 20—25 дней после перерезки нерва и соединения его концов

раздражение п. lingualis дает сокращения мышц языка тонического характера. По мере хода регенерации п. hypoglossi наблюдается постепенное восстановление быстрой реакции сокращения языка с постепенным подавлением и полным исчезновением к концу регенерации (46—50 дней) тонического сокращения, вызываемого п. lingualis. Таким образом, пользуясь тономоторным феноменом Vulpius-Heidenhain, удалось выявить два основных типа мышечного сокращения, сменяющие друг друга, что подтверждает точку зрения Л. А. Орбели на то, что изучение функционального состояния органа при дегенерации и регенерации моторного нерва является одним из плодотворных методов изучения эволюции функций.

В докладе Н. А. Итиной были представлены материалы по эволюции реактивности мышечной ткани на «вегетативные» яды. Исследовались сократительные ответы на «вегетативные» яды локомоторной мускулатуры ряда беспозвоночных (актиний, голотурий, кольчатые черви и др.), а также реакции на те же вещества мышц пищеварительного тракта и сократимых сердечно-сосудистых образований морского червя. Было показано, что локомоторные мышцы кишечно-полостных не реагируют на «вегетативные» яды, в то время как мышцы голотурий и червей способны реагировать на ряд этих веществ. Подобная нечувствительность свидетельствует об отсутствии соответствующей рецептивной субстанции в мышцах этих животных в связи с примитивным характером их иннервации. Как эти, так и некоторые другие полученные экспериментальные данные о различной реактивности на вегетативные яды локомоторной мускулатуры разных групп беспозвоночных подтверждают концепцию Л. А. Орбели о смене в процессе эволюции типов влияния нервов на эффекторные образования.

В докладе Н. В. Зимкина и А. В. Лебедевского «О влиянии тройничного нерва на движение зрачка кролика» были сообщены результаты исследования известного уже давно феномена сужения зрачка при раздражении периферического конца перерезанной ветви тройничного нерва у кролика. Опыты показали, что сужение зрачка действительно обуславливается элементами тройничного, а не отводящего нерва. Это можно трактовать как результат антридромного проведения. Предварительное введение в глаз атропина, никотина, адреналина и кураре не снимает этой реакции. В то же время эта реакция полностью снимается или предупреждается атропином в тех случаях, когда она вызвана субконъюнктивальным введением минимальных доз ацетилхолина, полностью воспроизводящего эффект нервного раздражения. Авторы затрудняются в определении химической природы медиатора, образующегося при раздражении тройничного нерва, ибо целый ряд опытов говорит как за, так и против предположения, что здесь имеет место образование ацетилхолина. Сокращение зрачка при раздражении периферической части тройничного нерва и отсутствие этого сужения при раздражении глазодвигательного нерва авторы рассматривают на основе теории Л. А. Орбели об эволюции нервной системы как проявление такого уровня развития этих нервов у кролика, когда чувствительный нерв вызывает двигательную реакцию, в то время как двигательный нерв еще не приобрел этого свойства. Л. А. Орбели в своем выступлении в прениях подчеркнул, что основная точка зрения высказанной им концепции заключается в том, что «все представители сократимых элементов, встречаемых нами в органической природе, представляют переходные формы, являющие собой различные степени продвижения вперед в их эволюционном развитии. Вместе с тем этот неодинаковый уровень развития мышечных элементов имеет место не только у животных разных видов, но и у одного вида, а также у одного индивидуума. Не следует противопоставлять друг другу различные формы мышечной деятельности, их можно рассматривать как продукты различного уровня развития одного и того же исходного материала. Эта концепция находит свое подтверждение во всем разнообразном фактическом материале, полученном по настоящее время», и является развитием в физиологической конкретизацией основных идей дарвинизма.

Четвертое заседание открылось докладом акад. Л. С. Штерн, В. В. Ефимова, Э. С. Локшиной и Л. В. Утевской «Ритм сна и бодрствования. Изучалось изменение ритма сна и бодрствования у животных под влиянием физических раздражителей в связи с биологическими и физико-химическими свойствами спинномозговой жидкости. Основанием для исследования авторов являлась предложенная Л. С. Штерн теория сна, согласно которой ритм сна и бодрствования у животных и человека, определяемый изменением реактивности и возбудимости нервных центров, находится в тесном взаимодействии с изменением состава спинномозговой жидкости, который в свою очередь зависит от гемато-энцефалического барьера. Опыты на собаках и птицах показали, что ритм сна и бодрствования изменяется: многофазный сон может переходить в однофазный и обратно под действием внешних физических агентов, как свет и более мощные — своего действия ультракороткие волны. Изменялись также биологические и физико-химические свойства спинномозговой жидкости.

Доклад Г. А. Юньева и А. М. Селяниновой был посвящен вопросу «О скорости распространения возбуждения в центральной нервной системе». Моторная зона коры подвергалась одиночному индукционному раздражению. Электрографическое определение разницы в продолжительности латентного периода возбуждения мышц передней и задней конечностей и также ряд других опытов показали, что скорость проведения равняется 20—30 м/сек, являясь, таким образом, меньшей, чем в двигательных соматических волокнах периферических стволов. У новорожденных животных скорость проведения значительно ниже: 0,5—1,8 м/сек; она приближается к установленной для вегетативных нервов. Это может стоять в связи с тем, что миэлинизация центральной нервной системы еще не является законченной на данном этапе развития. Вместе с тем обнаружены факты, подтверждающие взгляд, что головной мозг оказывает тормозящее влияние на проводимость спинного мозга у взрослого животного. У новорожденных животных вместо ускорения проведения наблюдается замедление, что может определяться недоразвитием у этих животных коры.

А. И. Бронштейн в докладе «О временных и пространственных соотношениях при сенсibilизации органов чувств» показал, что при часто повторяющемся действии на орган слуха, а также на кожные рецепторы слабых адекватных раздражителей, применяющихся при определении порогов чувствительности, наблюдается нарастание этой последней. Это повышение чувствительности (сенсibilизация) носит стойкий характер, обнаруживаясь через значительный промежуток времени. Необходимым условием сенсibilизации является многократное воздействие пороговых раздражений, что можно объяснить как результат суммации следов многих воздействий. Изучалось также изменение под влиянием сенсibilизирующих раздражений определенных участков сетчатки глаза, соседних участков сетчатки, а также участков, расположенных в другой половине глаза и в другом глазу. Наличие фазовых колебаний, наряду с разницей во временных и пространственных отношениях, автор считает доказательством того, что стойкие изменения чувствительности и кратковременные фазовые колебания протекают в разных отделах зрительного анализатора.

Пятое заседание было целиком посвящено сообщениям школы акад. А. А. Ухтомского. Насыщенный глубоким содержанием доклад А. А. Ухтомского объединил материал двух его совместных с П. И. Гуляевым сообщений: «Осциллографическое исследование оптимума и пессимума Введенского» и «Физиологическая лабильность и нелинейная теория электрических колебаний». Оказалось, что, применяя осциллографическую регистрацию при частотах раздражения около 500 Гц, можно наблюдать картины, полученные прежними авторами при оптимуме и пессимуме силы раздражения, когда обнаруживаются деление частоты токов действия мышцы в оптимуме и соответствие с частотой раздражения в пессимуме. При частотах от 500 до 12 000 Гц, наряду с наличием пессимума силы, найдено, что в этом диапазоне токи действия отличаются от таковых при низких частотах. Возникает независимость тока действия от частоты раздражения и ряд других явлений, которые оказываются затруднительным объяснить по гуморальной схеме. Эти явления, протекающие в области частот 400—800 Гц, разыгрываются в сотые доли секунды, причем нерв выходит из пессимума в оптимум мгновенно. Полученные данные не поддаются простому объяснению с точки зрения классической теории возбуждения и требуют принципиально другой постановки вопроса. А. А. Ухтомский привлекает к интерпретации наблюдавшихся им явлений возникшую в последние годы в современной физике нелинейную теорию электрических колебаний, которая предвидит как обязательные для определенных условий те явления, которые мы обнаруживаем в нервно-мышечном препарате: наличие порога и потолка (пессимума силы), раздражения, оптимума частоты, независимости частоты колебаний системы от действующей силы при высоких частотах (трансформация частоты по Введенскому), усвоение ритма и др. Гармоническая теория колебаний является лишь частным случаем того слитного колебательного процесса, существующего в природе, и характеризуется постоянным наличием переменных состояний. Автор указывает, что в неявной форме теория нелинейных колебаний уже была дана Введенским в его теории возбуждения.

В докладе Н. В. Голикова «О функциональных изменениях нервной системы при тетанус-токсинном отравлении» были приведены результаты изучения при помощи электрофизиологической методики функциональных изменений нервной системы при экспериментальном столбняке. Было показано, что за сутки до выявления первых клинических симптомов столбняка наступает удлинение субординационной хронаксии в мускулатуре, связанной с пораженным сегментом. С появлением и развертыванием клинических явлений это удлинение может превышать норму в 10—11 раз. В конечных периодах патологического состояния субординационная хронаксия резко укорачивается. Токи действия в мускулатуре отравленного животного оказываются увеличенными по сравнению с нормой. Опыты с перерезкой и выключением афферентных путей показали, что послед-

ние необходимы для классического выявления патологической картины, в которую вегетативная нервная система вовлекается в значительной степени.

Д. Т. Квасов в докладе: «Взаимодействие возбужденных волокон в мягкотом нерве при катодической поляризации» изложил данные о нарушении физиологической изоляции импульсов в связи с замыкательным тетанусом (Pflüger), т. е. при катодической поляризации нерва. Автор пользовался нервно-мышечным препаратом лягушки, причем нарушение изолированного проведения, определялось по наличию или отсутствию сокращения трехглавой мышцы бедра при слабом раздражении п. peronei и п. tibialis, так называемых «соседних» сокращений. Последние возникают лишь при анодической поляризации нерва и называются тесно связанными с пфлюгеровским феноменом. Нарушению этих обоих эффектов способствует ряд физических воздействий (ионный сдвиг в тканях при выдерживании лягушек на холоду и др.). Наряду с быстро развивающимися и исчезающими сокращениями трехглавой мышцы при соседней стимуляции наблюдались низкие тонусоподобные сокращения, подобные тем, которые описаны П. О. Макаровым и другими авторами.

П. О. Макаров в докладе «Проблема градации возбудимости и возбуждения в микрофизиологии» сообщил об исследованиях одиночного изолированного нервного волокна и органов чувств человека в микроинтервалах. На основании изучения ответов одиночной нейромоторной единицы на градуированные одиночные, двойные и ритмические стимулы, а также электротонических и перизлектротонических явлений автор приходит к выводам, что градация деятельности в возбудимых системах может осуществляться рядом условий. Здесь в первую очередь следует указать на изменение динамики возбудимости, на наличие слитно тонических явлений, на вовлечение в деятельность различного количества функциональных единиц и т. п. Интересные данные были получены при исследовании в микроинтервалах природы боли. Оказалось, что приложение к одной и той же точке кожи человека двух одинаковых подпороговых болевых стимулов с интервалом между ними до 1 с вызывает отчетливое болевое ощущение. Оно исчезает при интервале в 1—3 с и снова появляется при интервалах между отдельными стимулами от 3 до 350 с.

Таким образом, возникновение боли возможно в результате динамики взаимодействия нервных импульсов в тактильной афферентной системе человека, что не устраняет, однако, возможности наличия специфических рецепторов боли.

На последнем заседании был заслушан доклад проф. Э. А. Асратяна: «Новые данные по физиологии автономной нервной системы». Доклад явился обзором работ автора и группы его сотрудников по вопросам функциональной связи мозжечка с автономной нервной системой, участия симпатической нервной системы в передаче влияния верхних этажей центральной нервной системы на деятельность ее нижних отделов и характера воздействий брюшной симпатической цепочки на функциональное состояние спинного мозга. На основании полученных экспериментальных данных автор считает, что отношение мозжечка к автономной нервной системе является принципиально тождественным его отношению к соматической нервной системе с точки зрения учения Luciani о трофической функции мозжечка. Симпатическая нервная система не только участвует в угнетении спинальной рефлекторной деятельности со стороны верхних этажей центральной нервной системы, но может обуславливать и повышение деятельности спинного мозга. Вместе с тем получены данные, являющиеся дальнейшим подтверждением учения Л. А. Орбели об адапционно-трофической роли симпатической нервной системы.

По просьбе участников совещания акад. Л. А. Орбели кратко сообщил о некоторых новейших данных ряда его сотрудников, доклады которых, посвященные вопросам физиологии мозжечка и автономной нервной системы, не могли быть заслушаны совещанием из-за недостатка времени. Полученные данные свидетельствуют о том, что между мозжечком и симпатической нервной системой существует такое же кольцевое взаимодействие, как и между последней и центральными образованиями. Раздражение мозжечка способно вызвать все те эффекты, которые наблюдаются при раздражении симпатической нервной системы. Ее же раздражение может вызвать эффекты, являющиеся характерными для мозжечка. Таким образом, факт взаимодействия и вместе с тем самостоятельности этих двух аппаратов очевиден. Кроме того, имеются основания сказать, что мозжечок в какой-то мере участвует в регуляции функций и своим химизмом.

Работы совещания вызвали значительный интерес со стороны не только физиологов, но и работников смежных дисциплин.

Л. А. Бам

Ответственный редактор Л. А. Орбели

Сдан в производство 14.IV.1940.

Подписан к печати 8.IV.1940

Уполн. Мособлгорлита Б—5431

Заказ № 595

Техн. ред. Е. Н. Матвеева
Выпускающий М. В. Аксентьев

Медгиз № 399 Тираж 2 000 экз.

Авт. л. 13,5 64 000 зн. в п. л.

Набрано в 16-й тип. Огиза РСФСР треста «Полиграфкнига», Москва, Малая Дмитровка, 18.
Отпечатано в 17-й тип. Огиза РСФСР треста «Полиграфкнига» Москва, Шлязовая наб., 10.

СМЕРДИСТЕНА

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО ЖУРНАЛА СССР
им. И. М. СЕЧЕНОВА

Редакция просит авторов в отношении посылаемых в редакцию экспериментальных работ строго придерживаться следующих правил:

1. Рукописи должны быть четко отпечатаны на машинке на одной стороне листа. Размер рукописи не должен превышать $\frac{1}{2}$ листа (20 000 печ. знаков). Рукописи большего размера могут присылаться только после предварительного согласования с редакцией.

2. Если в статье имеются рисунки, диаграммы, фотографии и т. п., то должна быть приложена опись рисунков, а подписи к ним должны быть отпечатаны на отдельном листе в 2 экземплярах.

Ввиду того что большое количество рисунков крайне задерживает печатание журнала, редакция просит по возможности ограничивать их число и, как правило, не давать больше 4—5 рисунков на статью.

3. К каждой рукописи должно быть приложено резюме (не более 3 000 знаков) для перевода на один из иностранных языков (или готовый реферат на иностранном языке).

4. На рукописи должна быть указана лаборатория, где данная работа выполнялась, а также подпись руководителя учреждения или лаборатории о его согласии на печатание статьи.

5. В журнале печатаются только статьи, еще нигде не опубликованные. Печатаемые в журнале статьи не могут быть одновременно помещаемы в другие советские и иностранные журналы.

6. Фамилии иностранных авторов в рукописях должны быть даны в оригинальной транскрипции и вписаны совершенно разборчиво (на машинке или от руки печатными буквами).

7. Литературный указатель помещается обязательно в конце статьи, причем после названия журнала указываются том, страница, год (например, Физиологический журнал СССР, 19, 203, 1935); при указании названий журналов следует придерживаться их международной транскрипции.

8. В случае несоблюдения указанных правил рукописи будут возвращаться обратно.

9. Редакция оставляет за собой право сокращать статьи в случае необходимости.

10. Редакция просит авторов в конце статей указывать свой адрес, фамилию, имя и отчество.

11. Рукописи следует направлять по адресу: Москва, Всехсвятское, Балтийский поселок, 13, Всесоюзный институт экспериментальной медицины, проф. С. Я. Капланскому, для редакции Физиологического журнала СССР.

Рукописи по Ленинграду можно направлять по адресу: почт. отд. Колтуши (Ленингр. обл.), Биостанция им. акад. И. П. Павлова, доц. С. М. Дионесову.

Редакция

АДРЕС РЕДАКЦИИ: Москва, Всехсвятское, Балтийский поселок, 13, ВИЭМ,
проф. С. Я. Капланскому

По вопросам подписки и доставки журнала обращаться по адресу:
Москва, Маросейка, 7, в Главную контору подписных и периодических изданий
КОГИЗа

ВЫШЛИ ИЗ ПЕЧАТИ

I. Учебники и учебные пособия для средн. мед. школ

1. С. А. Райхер. Краткое руководство для работников молочной кухни. Ц. 1 р.
2. М. А. Морозов. Оспа и оспопрививание. Ц. 4 р.
3. В. П. Малышев. Учебник общей гигиены. Ц. 6 р. 25 к.

II. Санитарно-оборонная литература

1. М. С. Ихтейман. Учебник для медсестер запаса, т. II. Ц. 10 р. 25 к.
2. В. А. Оппель. Очерки хирургии войны. Ц. 13 р.
3. Т. Б. Шоу (перевод с англ.). Морская гигиена. Ц. 6 р.
4. С. А. Новотельнов. Основные принципы иммобилизации при лечении переломов. Ц. 11 р.
5. Проф. В. И. Попов. Первая доврачебная медпомощь раненым в ротном районе. Ц. 1 р. 35 к.
6. И. И. Федотов. Первая помощь раненому в бою. Ц. 40 к.
7. Б. И. Предтеченский. Самопомощь и взаимопомощь при поражениях. Ц. 25 к.
8. Пособие по санхимзащите (под ред. Б. И. Предтеченского и Я. Б. Цаффа). Ц. 26 р. 60 к.
9. П. П. Тимофеевский. Транспортные средства санитарной эвакуации. Ц. 2 р. 50 к.
10. Государственная научно-медицинская библиотека НКЗдрава. Челюстно-лицевые повреждения (библиография и рефераты). Ц. 15 р.
11. В. П. Калашников. Пособие по частной рецептуре. Ц. 9 р.

III. Пособия для врачей и научно-исследовательская литература

1. З. П. Соловьев. Вопросы здравоохранения. Ц. 14 р. 50 к.
2. Ф. С. Карганова-Мюллер. Столбняк. Ц. 10 р. 20 к.
3. А. Ф. Коровников. Главнейшие клиничко-лабораторные синдромы. Ц. 8 р.
4. Н. Д. Абрамова. Грипп (русская и иностранная литература 1925—1938 гг.). Ц. 7 р. 50 к.
5. М. П. Покровская. Туляремия. Ц. 2 р.
6. Проф. С. Я. Капланский. Кислотно-щелочное равновесие в организме и его регуляция. Ц. 3 р.
7. Проф. С. Л. Либерман, проф. Л. Н. Машкиллейсон и д-р А. М. Ариевич. Эпидемия таллиевым пластырем. Ц. 80 к.
8. Ю. Н. Розенблюм. Справочник по химическому контролю лекарственных форм. Ц. 3 р. 40 к.
9. Техника лечения переломов и применение аппаратуры (под ред. Н. Н. Приорова). Ц. 6 р. 25 к.
10. М. П. Ахутин. Острые инфекции, диплострептокок, серозиты. Ц. 7 р.
11. Симпатическая нервная трофика в физиологии и клинике (под ред. проф. И. П. Чукичева). Ц. 28 р.
12. А. Ф. Листов. Основы перкуссии и ее особенности у детей. Ц. 7 р.
13. Вопросы онкологии (сборник) (под ред. проф. Я. М. Брускина). Ц. 50 р.
14. Питая сессия Нефрохирургического совета совместно с Всесоюзной ассоциацией хирургов (под ред. академика Н. Н. Бурденко). Ц. 15 р.
15. Проф. М. А. Членов. Нафталин и его будущее. Ц. 5 р.
16. М. И. Певзнер. Хронические запоры и их лечение. Ц. 1 р.
17. Показания и противопоказания к направлению больных на курорты союзного, республиканского и местного значения (под ред. проф. С. Н. Соколова и д-ра А. Г. Гольдфайль). Ц. 16 р.
18. Мажбиц и Пятигорский. Физические методы терапии и профессиональных болезней полости рта. Ц. 8 р.
19. А. Б. Прейсман. Акушерский календарь по определению 35-недельной беременности и родов. Ц. 2 р. 50 к.

IV. Ведомственные издания

1. Наркомздрав СССР. Текущая и заключительная дезинфекция при туберкулезе (инструкция). Б/ц.
2. Наркомздрав СССР. Инструкция по борьбе с гриппом во внебольничных учреждениях. Б/ц.