

Т. П. ПЛатова

## ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ ОБМЕН ЯДРА ОВОЦИТА ТРИТОНА

(Представлено академиком Л. А. Орбели 17 II 1948)

Настоящая работа представляет попытку оценить значение результатов по интенсивности окислительного обмена, полученных при исследовании изолированных ядер. Экспериментальные данные последних лет создают представление об исключительно низком уровне обмена веществ в ядре. Ферменты, участвующие в окислительном обмене, как правило, содержатся в ядре в ничтожном количестве или отсутствуют. Это относится к индофенолоксидазе, цитохрому С, коферменту 1, рибофлавинову (<sup>2</sup>, <sup>3</sup>, <sup>5</sup>, <sup>14</sup>). Исключением являются данные по изолированным ядрам печени, где содержание индофенолоксидазы в изолированных ядрах составляет 50—60% по отношению к целой ткани (<sup>5</sup>). Дыхание изолированных ядер очень мало:

$Q_{O_2}$  изолированных ядер эритроцитов равняется — 0,2—0,4 (<sup>6</sup>, <sup>11</sup>);  
 $Q_{O_2}$  изолированных ядер клеток печени равняется — 0,6 (<sup>5</sup>).

Дыхание изолированного ядра овоцита амфибий составляет 1,5% от дыхания целого овоцита (<sup>3</sup>).

Потребление  $O_2$  целым овоцитом равно 0,17 мм<sup>3</sup>/час, изолированным ядром 0,002 мм<sup>3</sup>/час. Выделение  $CO_2$  целым овоцитом равно 0,13 мм<sup>3</sup>/час, безъядерным овоцитом 0,118 мм<sup>3</sup>/час, изолированным ядром 0,0018 мм<sup>3</sup>/час.

В данном случае, однако, мы оставляем без внимания тот факт, что если судить о дыхании ядра по разности между целым и безъядерным овоцитом, то получаются величины, в несколько раз превосходящие дыхание изолированного ядра:  $0,13 - 0,118 = 0,012$  мм<sup>3</sup> вместо 0,0018. В процентах от дыхания целого овоцита это составит 9,2% вместо 1,5%. Эта разница не может быть отнесена за счет потери плазмы, так как переживают длительное время только те овоциты, где ее вытекание при удалении ядра ничтожно мало.

При всяком разделении клетки имеется возможность повреждения; она особенно велика в случае изолированных ядер, когда ядро переносится в среду, резко отличную от нормальной для него среды. В связи с этим очень вероятно, что разница в интенсивности дыхания между изолированным ядром и ядром в клетке (в опытах Браше) зависит от повреждения изолированного ядра. Результаты экспериментов на изолированных ядрах, повидимому, не дают возможности утверждать, что то же характерно для нормального физиологического обмена ядра.

Некоторые наблюдения, проведенные нами на изолированных ядрах, действительно свидетельствуют о повреждении. Изменение объема изолированных ядер в различных растворах ни в какой степени не напоминает поведения клеток в соответственных условиях.

Для ядра оказалось невозможным подобрать изосмотическую концентрацию. В обычных физиологических растворах имеет место увеличение в объеме на 30—40%. В концентрированных растворах объем ядра не уменьшается, а увеличивается еще больше, так же как и в растворах разведенных. Во всех растворах после почти мгновенного (в течение 4—8 мин.) увеличения объема наступает его уменьшение, и в течение часа ядро достигает некоторого равновесного состояния. Конечный объем несколько больше исходного и практически одинаков во всех растворах.

Не останавливаясь на анализе причин, обуславливающих данное явление, мы должны констатировать, что поведение изолированного ядра отличается от поведения его внутри клетки при помещении ее в гипо- или гипертонические растворы. В этих случаях изменение объема ядра подчиняется осмотическим закономерностям с большим или меньшим приближением к поведению совершенного осмометра (1, 7, 9, 13).

В результате оводнения изолированного ядра изменяется распределение ядрышек; вместо обычного рассеяния по всему ядру они образуют одну сплошную группу и оседают на нижней поверхности ядра. Изменяется отношение изолированного ядра к виталь-

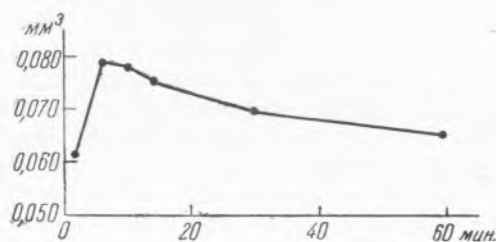


Рис. 1. Изменение объема изолированного ядра в физиологическом растворе

ным краскам, в нем начинают окрашиваться ядрышки, тогда как при помещении клетки в растворы витальных красок ядрышки не окрашиваются. В темном поле ультрамикроскопа в изолированном ядре обнаруживаются субмикроскопические частицы. Все эти данные указывают, что изолирование ядер связано с изменением их состояния, что нельзя ставить знак равенства между изолированным ядром и ядром, находящимся в клетке.

В настоящей работе с целью определения окислительной активности ядра было проведено определение потребления кислорода целыми и безъядерными овоцитами тритона. Вместо овоцитов, почти закончивших свой рост, на которых была проведена работа Браше, в опыт были взяты незрелые овоциты, имеющие 400—500  $\mu$  в диаметре, которые характеризуются быстро возрастающей интенсивностью окислительного обмена (12) и ядро которых, судя по морфологическим данным, находится в состоянии максимальной активности в отношении обмена веществ (10).

Для того чтобы учесть возможность повреждения овоцита в результате выделения ядра, в качестве контроля были взяты овоциты, поврежденные уколком. Определение потребления кислорода проводилось в ультрамикроманометре (12), опыты продолжались 3 часа.

Результаты за 1946 г. приведены в табл. 1.

Те же результаты получены в 1947 г.

В течение первых двух часов после удаления ядра имеет место значительное увеличение дыхания. Сравнение безъядерных и поврежденных уколком овоцитов показывает, что это увеличение является

Таблица 1\*

	Нормальные овоциты (9 опытов)			Безъядерные овоциты (7 опытов)			Поврежденные овоциты (6 опытов)		
	1946 г.								
Диаметр в $\mu$	517			546-513			541-541		
Часы	2	3	4	2	3	4	2	3	4
Потребление $O_2$ в $мм^3 \times 10^{-4}$ . . . . .	29,42	28,53	27,23	36,72	35,03	30,72	43,49	37,89	33,89
$Q_{O_2}$ . . . . .	36,62	35,71	34,23	50,07	49,91	40,96	54,57	46,48	42,13
$Q_{O_2}$ в % к норм. . . . .	100	100	100	137	140	120	149	131	123

	Нормальные овоциты (9 опытов)			Безъядерные овоциты (7 опытов)			Поврежденные овоциты (6 опытов)		
	1947 г.								
Диаметр в $\mu$	475			484-455			482-482		
Часы	5	6	7	5	6	7	5	6	7
Потребление $O_2$ в $мм^3 \times 10^{-4}$ . . . . .	17,83	18,03	18,22	15,24	15,03	14,49	19,87	17,45	17,68
$Q_{O_2}$ . . . . .	31,95	32,10	32,67	32,81	32,11	29,80	34,38	32,29	34,57
$Q_{O_2}$ в % к норм. . . . .	100	100	100	102	100	91	107	103	106

\* Два значения диаметров в группах безъядерных и поврежденных овоцитов представляют результаты измерения овоцита до и после выделения ядра или укола; часы указывают время от выделения овоцита, удаления ядра или укола до определения дыхания.

результатом повреждения. Это заставило перенести опыт на более поздние часы. Через 5 час. после удаления ядра эффект повреждения исчезает. Отсутствие ядра не отражается на скорости дыхания, величины  $Q_{O_2}$  практически одинаковы во всех группах.

Равенство  $Q_{O_2}$  целых и безъядерных овоцитов возможно только в том случае, если удаленная часть обладала той же интенсивностью дыхания, как и целый овоцит. (Так как  $Q_{O_2}$  представляет среднюю характеристику интенсивности дыхания клетки, то удаление части с малой скоростью дыхания должно увеличить  $Q_{O_2}$ , и наоборот). Следовательно, мы должны сделать вывод о том, что ядро обладает той же интенсивностью дыхания, что и цитоплазма.

Тот же вывод приходится сделать, если сравнить величины потребления кислорода целыми и безъядерными овоцитами. Уменьшение потребления кислорода на овоцит после удаления ядра равняется  $2,59 \times 10^{-4}$   $мм^3/час$ . По отношению к целому овоциту это составляет 17%. Промеры целых и безъядерных овоцитов показывают, что уменьшение объема овоцита в результате удаления ядра равняется 16%, т. е. уменьшение дыхания пропорционально уменьшению объема и, следовательно, удаленная часть (ядро) обладает той же интенсивностью дыхания, что и целый овоцит.

Сравнение наших данных с результатами Браше по выделению  $CO_2$  более зрелыми овоцитами дает основание предполагать, что интенсивность окислений в ядре с возрастом овоцита не становится меньше и что, следовательно, отмеченная нами высокая интенсивность дыхания характерна не только для взятого нами периода.

По мере роста овоцита относительный объем ядра значительно уменьшается. По промерам на фиксированном материале<sup>(10)</sup>, в интересующих нас пределах, он уменьшается приблизительно вдвое. Если судить по живому материалу, то относительный объем ядра овоцитов, заканчивающих рост, должен приблизительно равняться 8%. Здесь,

так же как и в нашей работе, оказывается, что уменьшение дыхания безъядерного овоцита (9%) пропорционально уменьшению объема в результате удаления ядра (8%). Следовательно, и в этот период роста овоцита интенсивность окислений в ядре не отличается от интенсивности окислений в цитоплазме.

Эти расчеты безусловно только приблизительны, но выводы, которые из них вытекают, находятся в согласии со всем комплексом данных\* по окислительному обмену изолированных ядер.

Оводнение ядра, отношение к витальным краскам, вид в темном поле ультрамикроскопа — свидетельствуют о том, что состояние изолированного ядра нельзя считать нормальным. Имея это в виду, нет никаких оснований расценивать обмен изолированного ядра как характеристику обмена живого ядра.

Определение активности окислительно-восстановительных ферментов настолько зависит от технических причин, что нельзя безоговорочно результаты, полученные на изолированном ядре, рассматривать как свойственные ядру, находящемуся в клетке. Относительно некоторых ферментов имеются определенные указания, что они не могут полностью быть учтены при этих определениях. Активность индофенолоксидазы в изолированных ядрах падает логарифмически<sup>(5)</sup> и поэтому неудивительны низкие значения, а иногда и отсутствие ее в изолированном ядре; цитохром С, вследствие низкого молекулярного веса, легко вымывается во время процедуры приготовления ядер<sup>(5)</sup>.

Расхождения в результатах по интенсивности окислений в ядре при определении на изолированных ядрах и по разности между целыми и безъядерными овоцитами при учете всех этих данных становятся вполне понятными. Изучение окислительного обмена на изолированных ядрах не дает представления об истинном обмене ядра. Нормальное, неповрежденное ядро, находящееся в клетке, обладает той же интенсивностью окислений, что и цитоплазма.

Институт цитологии, гистологии и эмбриологии  
Академии Наук СССР

Поступило  
17 II 1948

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> L. V. Beck and H. Shapiro, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., **34**, 170 (1936).  
<sup>2</sup> E. J. Boell, R. Chambers, E. A. Glancy and K. G. Stern, Biol. Bull., **79**, 352 (1940). <sup>3</sup> J. Brachet, Arch. exp. Zellf., **22**, 541 (1939). <sup>4</sup> Churney, Biol. Bull., **82**, 52 (1942) (цит. по L. V. Heilbrunn). <sup>5</sup> A. L. Dounce, J. Biol. Chem., **147**, 685 (1943). <sup>6</sup> A. L. Dounce and T. H. Lan, Science, **97**, 584 (1943). <sup>7</sup> H. J. Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre, 1904. <sup>8</sup> L. V. Heilbrunn, An Outline of General Physiology, 1945. <sup>9</sup> Kamada, J. Fac. Sci. Tokyo Zoology, **4**, 125 (1936) (цит. по L. V. Heilbrunn). <sup>10</sup> Н. К. Кольцов, Биол. ж., **7**, 3 (1938).  
<sup>11</sup> M. Laskowsky, Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., **49**, 354 (1942). <sup>12</sup> Т. П. Платова, ДАН, **53**, 259 (1946). <sup>13</sup> H. Skowron and S. Skowron, Bull. Intern. Acad. Polonaise Sci. et Lettr., Cl. sci. math. et nat., sér. B, **859** (1926) (цит. по L. V. Heilbrunn). <sup>14</sup> C. A. Zittle and B. Zitin, J. Biol. Chem., **144**, 99 (1942).