

Член-корреспондент АН СССР Х. С. КОШТОЯНЦ

## ОБ УЧАСТИИ ЭНЗИМАТИЧЕСКОГО «ФАКТОРА ПРОНИЦАЕМОСТИ» В ЯВЛЕНИЯХ НЕРВНОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ

За последние несколько лет внимание биологов и медиков было привлечено к особому явлению энзиматической природы, а именно, явлению деполимеризации и гидролитического расщепления высокомолекулярного мукополисахарида — гиалуроновой кислоты (под влиянием специфического энзима — гиалуронидазы. Этот интерес оправдывается тем, что названное высокомолекулярное соединение является основной мембранных структур животных тканей самого разнообразного происхождения, а энзим-гиалуронидаза, повидимому, идентичен фактору, который был известен ранее под названием «фактора проницаемости» или «фактора диффузии».

Как сказалось, химические взаимоотношения между гиалуронидазой и гиалуроновой кислотой лежат в основе многих биологических явлений, в разворачивании которых процессы проницаемости клеток играют столь большую роль. Оплодотворение яйцеклеток сперматозоидами, инвазия патогенных микроорганизмов, распространение ядов (змеиного и пчелиного) и других физиологически активных веществ, как оказывается, осуществляются при участии фермента гиалуронидазы. Реальность этого важнейшего достижения современной биологии и биохимии подтверждается рядом весьма важных клинико-физиологических наблюдений, доказывающих, что и в разворачивании ряда патологических процессов прямое участие принимает система: гиалуроновая кислота — гиалуронидаза (1-3).

Хорошо известно, что в явлениях нервного возбуждения большое значение имеют процессы, связанные с динамикой проницаемости различных клеточных структур, как нервных, так и иннервируемых ими. Естественно было предположить, что и в ходе нервного возбуждения, сопровождающегося изменениями проницаемости клеточных и межклеточных структур, названная выше система: гиалуронидаза — гиалуроновая кислота играет какую-то роль. Подобное предположение было сделано нами, исходя из нашего взгляда, что процессы нервного возбуждения в основном носят энзимохимический характер (4).

Для экспериментальной проверки сделанного нами предположения мы использовали в качестве субстрата препарат гиалуроновой кислоты, приготовленный из пупочных канатиков по методу, указанному Л. Г. Смирновой\*. Центрифугат экстракта сухого препарата пупочных канатиков на физиологическом растворе Рингера в различных разведениях вводился нами в сердце лягушки через канюлю Штрауба,

\* Выражаем благодарность проф. Л. Г. Смирновой за первые порции готового препарата, полученные для наших опытов от нее.

и в этих условиях сердце подвергалось раздражающему действию ствола п. *vago-sympatici*. Мы ожидали, что в условиях раздражения сердечных нервов, при котором безусловно происходит изменение проницаемости, должно было наступить изменение состояния гиалуроновой кислоты в порядке ее деполимеризации, если при нервном возбуждении действительно выступает роль энзима-гиалуронидазы.

Большая серия опытов, проведенных нами, показала, что действительно гиалуроновая кислота, находящаяся в сердце, подвергавшемся раздражению сердечных нервов (сопровождающемуся типичной остановкой и последующим симпатическим последствием), как правило, подвергалась деполимеризации.

Порядок опытов при этом был следующий. Бралась серия пробирок центрифугата экстракта пупочных канатиков как для контрольных экспериментов, так и для пропускания их в сердце в условиях раздражения сердечных нервов. Обычно давалось пятикратное раздражение нервов с продолжительностью в полминуты, с определенными интервалами отдыха, в общем в течение 5 мин. После этого как контрольные пробирки, так и пробирки с центрифугатом пупочных канатиков, находившимся в раздражаемом сердце, инкубировались в течение 15—20 мин. при температуре 20 и 37°C, после чего в эти пробирки прибавлялось равное количество 15% раствора уксусной кислоты для обнаружения характера и степени выпадения белковых сгустков и хлопьев (по упрощенной схеме определения гиалуронидазной активности Л. Г. Смирновой). Одновременно проводилось определение вязкости как белкового субстрата гиалуроновой кислоты, так и чистого препарата этой кислоты в контроле и опытах.

Наш опытный материал показал, что во всех случаях нервное возбуждение сердца приводило к явлению деградации белковых сгустков в кислой среде и деполимеризации гиалуроновой кислоты. Это выражалось, во-первых, в том, что те разведения гиалуроновой кислоты, которые в контрольных пробирках давали большой сгусток, в опытных пробирках давали сгусток меньшей величины, а при разведениях, при которых в контрольных пробирках выпадали сгустки меньшей величины или отдельные нити, в опытных пробирках мы не обнаружили ни сгустков, ни нитей. Во-вторых, вязкость растворов, находившихся в сердце, подвергавшемся нервному раздражению, заметно падала по сравнению с контролем.

Ферментативный характер наблюдаемых явлений нами был проверен следующим образом. Пробирки с определенными разведениями гиалуроновой кислоты в контрольных опытах, дающие ясное выпадение нитей или сгустков (после прибавления уксусной кислоты), инкубировались с перфузатом сердца (рингеровский раствор), подвергавшегося раздражению сердечных нервов. После инкубации мы наблюдали отчетливое явление деградации белковых сгустков и деполимеризации гиалуроновой кислоты. Однако в тех случаях, когда перфузат, полученный из сердца в тех же условиях раздражения нервов, подвергался предварительному кипячению, инкубация этого прокипяченного перфузата не вызывала описанных явлений.

Возможно было предположить, что подобное деполимеризующее влияние может оказывать ацетилхолин, как известно, высвобождающийся при раздражении сердечной ветви блуждающего нерва. Такое предположение было тем более вероятно, что явление деполимеризации гиалуроновой кислоты вызывают некоторые неэнзиматические агенты, например аскорбиновая кислота. Однако опыты, проведенные нами с ацетилхолином в физиологических разведениях, не дали положительного результата при непосредственном действии его на центрифугат. Эти же дозы ацетилхолина при действии на сердце вызывали расщеп-

ление комплекса гиалуроновой кислоты центрифугата, находившегося в сердце.

Наши предварительные опыты показали также, что атропин, который, как известно, выключает эффект действия блуждающего нерва на сердце и которому целый ряд авторов приписывает роль агента, изменяющего состояние клеточных мембран (состояние проницаемости), инактивирует гиалуронидазу, т. е. задерживает процесс деполимеризации гиалуроновой кислоты, который мы наблюдали при раздражении сердечных нервов в нормальных условиях.

Настоящее сообщение находится в органической связи с работами, опубликованными нами ранее и подтверждающими энзимохимический характер нервного возбуждения. Еще в 1939 г. нами было высказано предположение, что имеются черты сходства в таких отдаленных (как может показаться на первый взгляд) явлениях, как оплодотворение и нервное возбуждение. Мы указывали на то, что как при оплодотворении («возбуждение оплодотворения»), так и при нервном возбуждении происходит высвобождение физиологически активных веществ, имеющих ведущее значение в цикле химических превращений, которые лежат в основе процесса возбуждения и в том и в другом случае.

В настоящем сообщении приведены экспериментальные данные, которые показывают, что система: гиалуронидаза — гиалуроновая кислота, которая играет такую важную роль при оплодотворении яйцеклетки сперматозоидом (через изменение состояния поверхностных структур яйцеклетки), играет также существенную роль при нервном возбуждении клеток, являясь основой динамики проницаемости иннервируемых клеток. Данные настоящего сообщения находятся также в связи с недавно опубликованными нами данными<sup>(5)</sup>, которые были получены нами при тонких микрофизиологических исследованиях сердца при нервном раздражении. Нами было показано, что при раздражении симпатического нерва в определенных участках сердца, а именно, в межклетниках эндотелиальной ткани, происходит диссоциация протеината кальция, что в свою очередь ведет к изменению плотности «межклеточного цемента», т. е. ведет к изменению проницаемости эндотелиальной ткани.

Таким образом, мы можем прийти к выводу, что в сложном комплексе энзимохимических процессов, которые разыгрываются при нервном возбуждении, определенное место должны занять энзимохимические реакции, связанные с изменением мембраны — проницаемостью клеток. Играет ли система: гиалуронидаза — гиалуроновая кислота, имеющая такое универсальное распространение, ведущую роль во всех случаях нервного возбуждения (что нам кажется вполне вероятным), должны показать дальнейшие опыты.

Сектор эволюционной физиологии  
Института эволюционной морфологии  
им. А. Н. Северцова

Поступило  
3 IV 1948

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

<sup>1</sup> Л. Г. Смирнова, Усп. совр. биол., в. 1, 302 (1947). <sup>2</sup> Е. Я. Гейман, там же, 23, 323 (1947). <sup>3</sup> С. М. Бычков, там же, 25, 1 (1948). <sup>4</sup> Х. С. Коштоянц, Юбилейный сборник, посв. 30-летию Великой Октябрьской социалистич. революции, изд. АН СССР, ч. 2, 437, 1947. <sup>5</sup> Х. С. Коштоянц, И. А. Кедер-Степанова и В. А. Шидловский, ДАН, 59, № 1 (1948).