

А. Н. ТРИФОНОВА

РИБОЗОНУКЛЕИНОВАЯ КИСЛОТА ПРИ ОБРАТИМОМ ПОВРЕЖДЕНИИ ТКАНИ

(Представлено академиком Л. А. Орбели 12 VI 1948)

Согласно теории паранекроза, клетки в нормальном состоянии откладывают проникающий в них витальный краситель в виде гранул, а при обратимом повреждении (паранекрозе) вся протоплазма прокрашивается диффузно.

По Б. В. Кедровскому⁽¹⁾, чьи взгляды получили убедительное подтверждение в данных Л. Ф. Ларионова и Е. М. Брумберга⁽²⁾, концентрация основных красок в гранулах обусловлена наличием в них рибозонуклеиновой кислоты.

Диффузное связывание красителя всей цитоплазмой, по Д. Н. Насонову и В. Я. Александрову⁽³⁾, обусловлено увеличением при денатурации активных групп белковых молекул (для связывания основных красок — увеличением кислых групп). Возникает вопрос, не ответственна ли рибозонуклеиновая кислота не только за конденсацию основной витальной краски в гранулах, но и за ее диффузное связывание всей массовой цитоплазмы. В связи с этим нашей задачей было проанализировать изменение количества рибозонуклеиновой кислоты при повреждении ткани и сопоставить его с характером витальной окраски этой же ткани. Для определения рибозонуклеиновой кислоты («цитоплазматической» нуклеиновой кислоты) Браше⁽⁴⁾ применил окраску пиронином с перевариванием части препаратов рибонуклеазой. С корешками проростков семян растений (фасоль, бобы, лук) нами были применены два повреждающих воздействия — 1 М раствор мочевины и 0,02—0,05% М раствор хлоралгидрата.

Оба воздействия дали совершенно одинаковые картины со всеми тремя растительными объектами, но при условии, что степень повреждения (о которой мы судим по угнетению роста корня в период последующих действий) была одинаковой. Раствор мочевины указанной концентрации оказался значительно более токсичным, в связи с чем применяемые с ним сроки (от 30 мин. до 6 час.) значительно короче сроков, применяемых с хлоралгидратом (от 2 до 24 час.). Все сравниваемые друг с другом срезы всегда наклеивались на одно предметное стекло, что обеспечивало одинаковые сроки окраски и отмывки.

На самых первых стадиях повреждения сначала несколько увеличивается ядрышко, а затем появляются и в самом ядре окрашиваемые пиронином зерна так называемой «цитоплазматической» нуклеиновой кислоты. Ее первые появления следуют за описанным А. Н. Трифоновой⁽⁵⁾ уменьшением в ядре дезоксирибозонуклеиновой кислоты. Быть может, уменьшение последней обусловлено тем, что она претерпевает какие-то перестройки.

При усилении действия повреждающего агента (рост корня после воздействия угнетен сильнее, но отмирания кончика корня еще нет) количество рибозонуклеиновой кислоты в ядре все время возрастает и достигает максимума при необратимом повреждении (кончик корня отмирает). В это время при окраске по Уппа — Рарпенгейм'у в ядре уже совсем нет лазорево-голубой окраски, и все его структуры окрашиваются в фиолетово-красный тон.

Одновременно с появлением рибозонуклеиновой кислоты в ядре растительной клетки возрастает ее количество и в цитоплазме, которое продолжает возрастать по мере усиления повреждения. Это усиле-

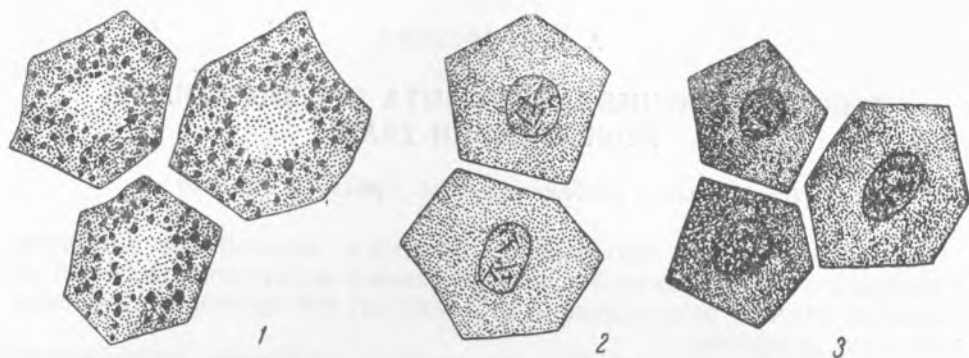


Рис. 1. Характер отложения нейтральной красной при витальном окрашивании плавательной перепонки лягушки: 1 — в контроле, а также после воздействия температурой 36 — 37° в течение 30 мин., 2 — при том же воздействии в течение 60 мин., 3 — при том же воздействии в течение 90 мин.

ние окраски пиронином ткани, фиксированной после повреждения, в некоторых сериях настолько резко, что оно прекрасно видно даже при рассматривании срезов невооруженным глазом.

Возможность проследить рост кончика корня после воздействия создает уверенность, что возрастание нуклеиновой кислоты при повреждении начинается на обратимой фазе повреждения. Интересно, что Ренстром (6) при обратимом повреждении яйцеклетки наблюдал выделение какой-то кислоты. Ренстром тщательно проанализировал, не является ли эта кислота молочной или другим кислым продуктом анаэробного расщепления, однако ему не удалось установить ее природу. Одна из характерных черт паранекроза — также сдвиг реакции в кислую сторону («кислота повреждения»). Е. Н. Громова (7) в лаборатории проф. Полянского описала изменение окраски по Уппа — Рарпенгейм'у при голодании инфузорий; при этом ею также отмечено увеличение в ядре красящихся пиронином элементов.

В качестве животного объекта мы взяли плавательную перепонку лапки лягушки. С ней в качестве воздействия мы применили высокую температуру (36 — 37° С). Срезы через многослойный эпителий плавательной перепонки лягушки при окраске по Уппа — Рарпенгейм'у дали вполне типичную окраску (рис. 2, А). Если предварительно лапка была подвергнута 30-минутному воздействию, то окраска срезов пиронином уже изменена; наблюдаемая при этом картина весьма характерна — многослойный эпителий окрашен пиронином весьма слабо, лишь усилена (иногда весьма резко) окраска цитоплазмы в поверхностных уплощенных клетках (клетках менее жизненных и потому легче повреждаемых) (рис. 2, Б).

Иногда подобная картина наблюдается и в контроле, что повидимому, говорит о раздраженном состоянии поверхностных клеток; однако в контроле эта картина наблюдается редко, а при слабом

повреждении всегда. При 30-минутном воздействии витальные красители концентрируются еще только субстратом гранул, вся масса цитоплазмы окрашивается витально нейтральной красной весьма слабо и тон ее окраски говорит о слабо щелочной реакции (рис. 1, 1).

45-минутное воздействие еще не дает подавления гранулообразования, не дает оно и усиления окраски пиронином фиксированного препарата. Если воздействие длится дольше (50 мин.), то мы витально наблюдаем исчезновение гранул красителя, появляется интенсивная диффузная окраска цитоплазмы и ее реакция становится кислотной (т. е. наступает паранекроз) (рис. 1, 2).

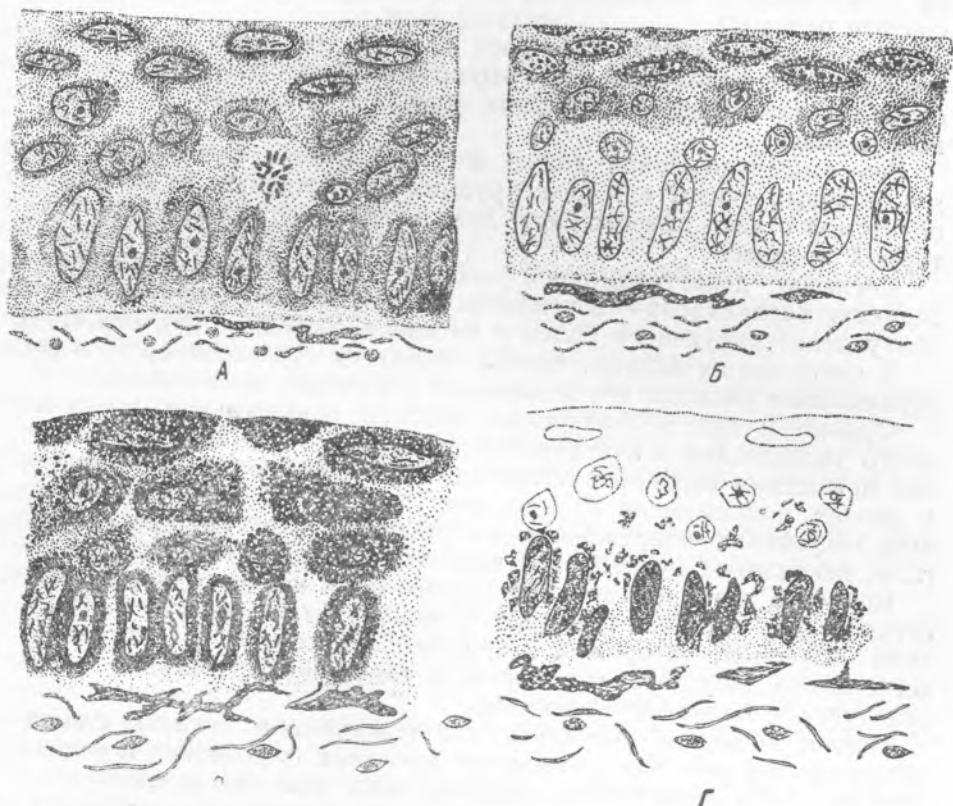


Рис. 2. Окраска пиронином срезов плавающей перепонки лягушки, фиксированной центер-формолом: А — в контроле; В — после воздействия температурой 36—37° в течение 40 мин.; В — при том же воздействии в течение 60 мин.; Г — при том же воздействии в течение 90 мин.

После этого срока воздействия на фиксированных препаратах также наблюдается усиление окраски пиронином цитоплазмы (рис. 2, В). В 8 сериях мы наблюдаем полное совпадение во времени усиления при повреждении адсорбции живой цитоплазмой витального красителя и усиления окраски пиронином фиксированного препарата (базофилия).

Таким образом, увеличение рибозонуклеиновой кислоты в тканях при обратимом повреждении наблюдается в ответ на действие трех агентов весьма различной природы; наблюдается оно как с растительными, так и с животными объектами. Если воздействие длится еще дольше (90 мин.), наступают уже явно необратимые изменения (рис. 1, 3).

Вся основная масса цитоплазмы на фиксированном препарате оказывается совершенно не окрашенной пиронином (рис. 2, Г). Создается

впечатление, что при отмирании ткани нуклеиновая кислота вымывается из нее.

Л. Ф. Ларионов и Е. М. Брумберг⁽²⁾, описывая исчезновение нуклеиновой кислоты из цитоплазмы «при повреждении и умирании», явно имеют дело с умиранием. Согласно их описанию, ядра при этом резко сжаты (на $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$), что, конечно, указывает на пикноз. Обратимая стадия повреждения ими не описана.

Физиологическое значение нуклеиновых кислот весьма велико: они играют большую роль в ферментативной системе клетки; их накопление, возможно, ведет к повышению энергетического потенциала клетки⁽⁸⁾ и, наконец, нуклеиновые кислоты играют важнейшую роль при синтезе белка⁽⁹⁾.

Повреждение живого субстрата должно «выводить из строя» часть его белковых молекул, и если это повреждение обратимо, естественно ожидать интенсивного белкового синтеза, ведущего к репарации повреждения.

Все вышеизложенное делает а priori вполне понятным значение нуклеиновых кислот при репарируемом повреждении; их появление на обратимой стадии повреждения должно рассматриваться как регуляторный процесс.

Согласно денатурационной теории повреждения, биологическое значение паранекроза — в усилении обмена веществ, ведущего к возврату денатурирующего белка в нативное состояние⁽³⁾, стр. 196).

В свете наших данных, накапливающиеся при паранекрозе в клетке нуклеиновые кислоты обуславливают усиленный синтез белка.

Однако и при репарируемом клеткой повреждении может иметь место уменьшение в ней нуклеиновых кислот, что описано Хиден⁽¹¹⁾ при истощении нервной клетки после длительного раздражения и нами в начале повреждения⁽⁵⁾ (до наступления паранекроза). В обоих этих состояниях повреждение имеет место, а регуляторный процесс (т. е. накопление нуклеиновой кислоты) недостаточен.

Вопрос о путях накопления нуклеиновых кислот при повреждении остается для нас пока не ясным. Однако, учитывая огромный фактический материал авторов денатурационной теории повреждения⁽³⁾, естественно допустить, что при этом ведущую роль играют процессы денатурации белковой молекулы.

Вполне возможно допустить, что нуклеиновые кислоты становятся обнаруживаемыми как химически активные соединения в результате изменения при денатурации конфигурации молекул нуклеопротеидов. Возможно допустить их отщепление от белкового компонента при денатурации, но наряду с этим может иметь место и обменный их синтез.

Ленинградский государственный
стоматологический институт

Поступило
4 V 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Б. В. Кедровский, Усп. совр. биол., 15, 295 (1942). ² Л. Ф. Ларионов и Е. М. Брумберг, ДАН, 54, № 3 (1946). ³ Д. Н. Насонов и В. Я. Александров, Реакция живого вещества на внешние воздействия, 1940. ⁴ J. Brachet, C. R. Soc. Biol., 133, 80 (1940). ⁵ А. Н. Трифонова, ДАН 59, № 6 (1948). ⁶ J. Runnström, Biol. Bull., 69, № 3 (1935). ⁷ Е. Н. Громова, Зоол. журн., 20, 2 (1941). ⁸ J. Brachet, Embryologie chimique, 1944, p. 244. ⁹ T. Caspersson and B. Thorell, Chromosoma, 2, No. 2, (1941). ¹⁰ В. Я. Александров, Усп. совр. биол., 24, 1 (4) (1947). ¹¹ H. Nyden, Acta Phys. Scand., 6, suppl. 7 (1943).