

С. Н. РОМАНОВ

ВЛИЯНИЕ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОГО НАГРЕВАНИЯ МЫШЦ НА ВЕЛИЧИНУ СВЯЗЫВАНИЯ ИМИ КРАСИТЕЛЯ

(Представлено академиком К. М. Быковым 7 III 1949)

Введение

Если живую клетку чем-либо повредить, то ее протоплазма и ядро связывают больше красителя, чем протоплазма неповрежденной клетки. Это явление стало общеизвестным благодаря работам школы Д. Насонова (1). Нами было также установлено, что при адекватном физиологическом возбуждении клетки увеличивается ее сродство к красителям. Влияние возбуждения на характер прижизненной окраски было изучено нами более подробно на нервных клетках спинальных ганглиев кролика (2).

Оказалось, что если нервные клетки через их отростки раздражать индукционным током в течение, например, 15 мин., то в первые 30 мин. после прекращения раздражения клетки связывают краситель в больших количествах, чем клетки невозбужденные. Однако в дальнейшем наблюдается обратная картина. Через 40 мин. после прекращения возбуждения нервные клетки связывают краситель в меньшем количестве, чем клетки невозбужденные. Пониженное связывание красителя нервными клетками после их возбуждения наблюдается в течение 40—60 мин. И лишь затем происходит выравнивание, т. е. и опытные и контрольные клетки связывают краситель в одинаковых количествах. Пониженное сродство к красителям можно наблюдать на нервных клетках сразу же после раздражения, если это раздражение длилось всего 5—10 сек.

Нами было высказано предположение, что нервные клетки после их возбуждения или в результате пережитого ими возбуждения становятся на некоторое время более стойкими к повреждающим агентам. В клетках, недавно переживших возбуждение, краситель нейтральный красный в концентрациях 0,1%, повидимому, не вызывает каких-либо повреждений, тогда как в контрольных невозбужденных клетках эти повреждения вызываются. В силу указанных обстоятельств именно контрольные клетки связывают краситель в больших количествах, чем опытные. Если взять слабую концентрацию нейтрального красного, одинаково не токсичную как для опытных, так и для контрольных клеток, то периода пониженной сорбции красителя опытными клетками не должно быть. В действительности это положение и было экспериментально подтверждено.

В дальнейшем мы провели ряд исследований для выявления соответствующих закономерностей и на мышечной ткани. Результаты этих исследований излагаются в настоящей работе.

Материал и методика

Вся работа была проведена на портняжной мышце лягушки. Отпарованные мышцы помещались в раствор Рингера и выдерживались в течение 1 часа. Через 1 час одна из парных мышц (опытная) помещалась в раствор Рингера, нагретый до желаемой температуры, сроком на 5 мин. Вторая, ей парная (контроль), оставалась в растворе Рингера при комнатной температуре. Через 5 мин. и опытная и контрольная мышцы одновременно помещались в 0,1% раствор нейтрального красного на 15 мин. В других сериях опыты мышцы, извлеченные из подо-

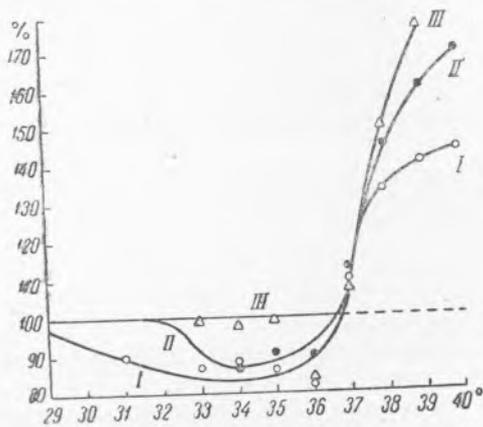


Рис. 1. Зависимость величины связывания красителя мышцами от температуры

гретого раствора Рингера, не сразу помещались в раствор красителя, а через 5 и 10 мин. («отдых») после нагревания и лишь затем, также одновременно с контрольными мышцами, помещались в краситель. Через 15 мин. окраски мышцы извлекались, споласкивались в дистиллированной воде и после соответствующей очистки помещались в подкисленный спирт для экстракции краски. Через 10 час. краска нацело извлекалась из мышцы в окружающий раствор. Фотометром Пульфриха определялось относительное содержание красителя в опытных и контрольных мышцах. Содержание красителя в контрольных мышцах принималось за 100%, для опытных мышц количество красителя выражалось в процентах к контролю.

Величина связывания красителя мышцами в различные сроки после нагревания

Для изучения количественных закономерностей в связывании красителя мышцами в различные сроки после нагревания было поставлено три серии опытов. В первой серии опытов определялась величина связывания красителя мышцами, опущенными в краситель сразу же после нагревания, во второй серии — через 5 мин. и в третьей серии — через 10 мин. после нагревания. Во всех трех сериях исследовалось действие следующих температур: 29, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 и 40°. Результаты всех трех серий опытов изображены на рис. 1. По оси абсцисс отложены температуры, до которых нагревались мышцы, по оси ординат — количество связанного мышцами красителя в процентах к контролю. Кривая I рис. 1 представляет результаты первой серии опытов, когда мышцы красились сразу же после нагревания; кривая II представляет результаты второй серии опытов, когда мышцы красились че-

рез 5 мин. после нагревания; кривая III — результаты третьей серии, в которой мышцы красились через 10 мин. после нагревания. На рис. 1 видно, что в первой и второй сериях опытов мышцы после 5-минутного их нагревания при температуре в интервале от 29 до 36° связывают красителя значительно меньше, чем контрольные мышцы. Это свойство пониженной сорбции красителя исчезает в мышцах через 10 мин. после прекращения нагревания, что видно на кривой III.

На рис. 1 видно также, что кривые всех трех серий опытов имеют крутой подъем вверх, начиная с 37°. Повидимому, температура в 37° является, при прочих равных условиях, критической, при которой начинается процесс необратимого повреждения. (Надо полагать, что мышца будет необратимо повреждена и при 35°, если ее держать 30—40 мин. при этой температуре. В данном же случае речь идет о 5-минутном пребывании при указанной температуре).

Чтобы получить более яркую иллюстрацию полученных данных, изобразим графически различия в связывании красителя для разных температур. По оси абсцисс рис. 2 отложено время «отдыха», по оси ординат — процент сорбции красителя опытными мышцами. Как видно на этом рисунке, все кривые связывания красителя для температур ниже 37° находятся ниже контроля, и все кривые, полученные для температур выше 37°, находятся выше контроля. Для более полной характеристики экспериментального материала приводится табл. 1 с указанием числа опытов и средней квадратичной ошибки.

Из табл. 1 видно, что все приведенные данные статистически оправданы. Во всех случаях погрешность средней арифметической не выходит за пределы допускаемых уклонений. Также статистически оправданы данные в других сериях опытов, цифровой материал которых здесь не приводится.

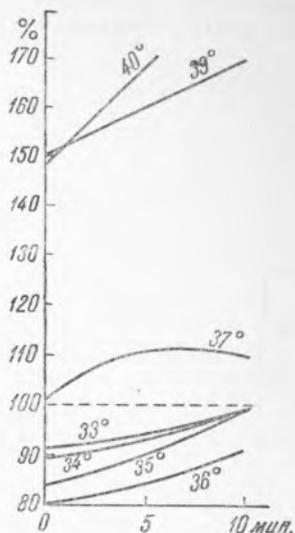


Рис. 2. Зависимость величины связывания красителя мышцами от продолжительности «отдыха» после нагревания. Кривые даны для каждой температуры в отдельности

Таблица 1

Результаты статистической обработки величин связывания красителя мышцами. Мышцы красились сразу же после нагревания

Температура, до которой нагревались мышцы, в °С	Число опытов	М уклонения от контроля в %	Вероятная погрешность
33	14	-12,2	±1,9
34	15	-10,8	±1,6
35	21	-15,3	±0,7
36	33	-17,6	±2,6
37	11	+11,6	±3,1*
38	10	+34,0	±8,6
39	10	+41,0	±9,9
40	10	+46,5	±6,3

* Мышца красилась через 10 мин. после нагревания.

Из приведенных рисунков и таблицы видно, что все мышцы при нагревании их от 33 до 36° связывают красителя меньше, чем контрольные. Мы знаем, однако, что температура в 35—36° является повреждающей для портняжных мышц и должна, следовательно, вызывать повышение сродства к красителям. Это видно из работы В. Буткевич (3) которая показала, что повреждение портняжной мышцы температурой начинается уже с 34°, и именно с этого момента начинается повышенное связывание красителя этими мышцами. Однако между нашими опытами и опытами Буткевич имеется существенная разница. В то время как

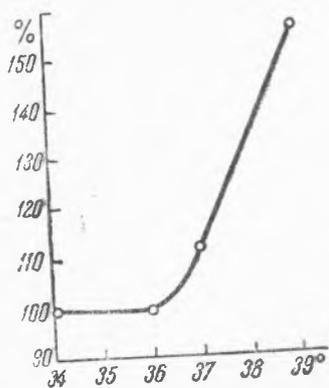


Рис. 3. Зависимость величины связывания красителя мышцами от температуры. Концентрация красителя 0,01%

Буткевич окрашивала мышцы в момент их нагревания, в наших опытах мышцы окрашивались после нагревания. Таким образом, мы здесь имеем дело с температурным «последствием».

Приведенные экспериментальные данные показывают, что и на мышечной ткани мы наблюдаем такое же явление пониженной сорбции красителя, как и на нервных клетках (2).

Почему же мышцы после нагревания связывают краситель в меньших количествах, чем мышцы, ранее не нагретые? Мы полагаем, что причина та же, что и для нервных клеток. Мышцы, недавно пережившие возбуждение в результате действия температуры, становятся на некоторое время более стойкими к токсическому действию красителя. Мышцы, ранее не нагретые (контрольные), менее стойки к токсическому действию красителя. В результате этого контрольные мышцы связывают красителя больше, чем опытные. Если взять более слабые концентрации нейтрального красного, которые будут одинаково нетоксичны как для опытных, так и для контрольных мышц, то и различия в связывании красителя между ними не должно быть.

Такие опыты нами и были поставлены. Вся методика та же, как и в предыдущих опытах, только концентрация нейтрального красного взята не 0,1%, а 0,01%. Опыты проделаны для четырех различных температур 34, 36, 37, 39°. Окраска начинается после нагревания через 5 мин. Результаты этих опытов представлены на рис. 3. Как и предполагалось, различия в количестве связанного красителя опытными и контрольными мышцами для температур 34—36° нет. Начиная с 37°, когда мышцы необратимо повреждаются, они и краситель связывают в больших размерах, чем контрольные. Нам кажется, что эти опыты подтверждают правильность высказанного нами предположения, что мышцы увеличивают сопротивляемость к повреждающим агентам после кратковременного воздействия на них температуры в интервале от 33 до 36°.

В заключение следует еще отметить, что для мышечной ткани период повышенной стойкости к повреждающему агенту значительно меньше по времени, чем для нервных клеток. Для мышц этот период заканчивается через 15—20 мин., тогда как для нервов он в 3—4 раза дольше, именно 60—80 мин.

Институт экспериментальной медицины
Академии медицинских наук СССР

Поступило
22 II 1949

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- 1 Д. Насонов и В. Александров, Реакция живого вещества на внешние воздействия, изд. АН СССР, 1940. 2 С. Романов, ДАН, 61, № 4; 61, № 5 (1948). 3 В. Буткевич, Вестн. ЛГУ (1948).