

М. А. ГУБЕРНИЕВ и И. Г. КОВЫРЕВ

О КОЛИЧЕСТВЕННОМ ИЗМЕНЕНИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В СЛЮННЫХ ЖЕЛЕЗАХ СОБАКИ ПРИ СЕКРЕЦИИ

(Представлено академиком С. С. Наметкиным 18 IX 1948)

В 1941 г. Касперсоном ⁽¹⁾ было установлено, что в околоушных железах, секреты которых содержат большое количество белка, цитоплазма богата нуклеиновой кислотой. Новиков и Поттер ⁽²⁾ в 1948 г. сообщили, что количество нуклеиновых кислот увеличивается в период эмбрионального развития куриного зародыша. Задачей настоящей работы являлось исследование количественного содержания нуклеиновых кислот при стимуляции слюнных желез (околоушных и подчелюстных) пилокарпином и раздражением секреторного нерва.

Методы, употребляемые для определения нуклеиновых кислот в органах, основаны на определении с помощью цветных реакций их углеводных соединений. Цветные реакции страдают рядом существенных недостатков из-за нестабильности дезоксирибозы и из-за необходимости отделения нуклеиновой кислоты от белков. Затруднения эти могут быть преодолены, если количественное содержание дезоксирибонуклеиновой и рибонуклеиновой кислот определять на основании содержания фосфора. Это показали Шмидт и Таннгаузер ⁽³⁾.

Мы использовали предложенную ими методику выделения «нуклеопротеидов» и определения нуклеиновых кислот по фосфору в нашем исследовании количественного изменения нуклеиновых кислот в околоушных железах во время покоя и при раздражении под действием пилокарпина. Эксперименты сводились к следующему: у собак весом от 5 до 12 кг под общим эфирохлороформенным наркозом удаляли одну околоушную железу и замораживали ее жидким воздухом.

После этой операции собаке вводили 1,5 см³ 1% раствора пилокарпина в вену. В течение одного часа у собаки наблюдалось слюноотделение, вызванное пилокарпином. На этом фоне удаляли вторую околоушную железу и ее также замораживали жидким воздухом и обрабатывали по Шмидту и Таннгаузеру. Обработанные абсолютно сухие порошки (контрольные и опытные) в количестве 0,1 г заливали 10 см³ 1 N КОН и инкубировали в течение 15 час. при температуре 37° С. При этих условиях ткань полностью растворяется. Для определения нуклеиновых кислот к инкубату добавляли 0,2 объема 6 N HCl и 1 объем 5% трихлоруксусной кислоты. Осадок, содержащий дезоксирибонуклеиновую кислоту, сжигали в смеси серной и азотной кислот. После мокрого озоления определяли фосфор дезоксирибонуклеиновой кислоты и пересчитывали содержание этой кислоты, умножая полученные величины фосфора на 10,1. В фильтрате определяли рибонуклеиновую кислоту также по фосфору, так как при инкубировании и без сжигания рибонуклеиновая кислота прогидролизировалась. Все определе-

ния проводили по Фиске и Суббарову (4). Полученное количество фосфора умножается для рибонуклеиновой кислоты на 10,6.

Результаты сведены в табл. 1.

Таблица 1

№ опытов	Месяц и число 1947 г.	Условия эксперимента	Вес сухого «нуклео-протеида»	Колич. фосфора в 1 г сух. вещ. в мг	Дезоксирибонуклеиновая кислота (DNA)			Рибонуклеиновая кислота (RNA)		
					колич. фосфора DNA в 1 г сух. вещ. в мг	колич. DNA в мг	% увеличен. в опытах	колич. фосфора RNA в 1 г сух. вещ. в мг	колич. RNA в мг	% увеличен. в опытах
1	12 II	контр.	1,1	5,22	3,15	31,8		2,07	21,9	
		опыт	0,97	6,75	4,05	40,9	28,6	2,70	28,6	30,1
2	13 II	контр.	1,97	7,80	5,55	56,0		2,25	23,8	
		опыт	1,70	9,03	6,75	68,2	21,6	2,28	30,5	28,0
3	14 II	контр.	0,99	4,32	2,70	27,3		1,62	17,2	
		опыт	0,70	5,52	3,00	30,3	11,1	2,52	26,7	55,5
4	8 III	контр.	1,75	7,17	5,10	51,5		2,07	21,9	
		опыт	1,95	8,85	6,15	62,1	20,2	2,70	28,6	30,0
5	10 III	контр.	0,95	4,50	2,25	22,7		2,25	23,8	
		опыт	0,65	6,15	3,45	34,8	53,3	2,70	28,6	20,0
6	11 III	контр.	1,00	3,78	2,25	22,7		1,53	16,22	
		опыт	1,20	4,89	3,00	30,3	33,3	1,89	20,0	23,5
7	17 III	контр.	1,10	7,23	5,7	57,5		1,53	16,22	
		опыт	0,95	7,84	6,45	65,2	11,4	1,39	20,0	23,5
8	18 III	контр.	0,60	6,90	4,65	48,0		2,25	23,0	
		опыт	0,55	8,04	5,70	57,5	23,0	2,34	24,8	5,0
9	28 II	контр.	0,40	7,41	5,25	53,0		2,16	22,9	
		опыт	0,45	10,62	6,75	68,0	28,5	3,87	41,0	80,0
10	28 III	контр.	2,60	4,17	3,0	30,3		1,17	12,4	
		опыт	2,65	5,88	3,9	39,4	30,0	1,98	21,0	69,2
11	1 IV	контр.	1,75	4,08	2,55	25,7		1,53	16,2	
		опыт	1,65	5,25	3,00	30,3	18,0	2,25	23,8	47,0
12	7 IV	контр.	2,45	4,53	3,00	30,3		1,53	16,2	
		опыт	2,30	5,04	3,15	31,8	5,0	1,89	20,0	23,5
13	12 IV	контр.	2,40	6,26	5,10	51,5		1,17	12,4	
		опыт	2,50	8,05	6,15	62,1	20,6	1,89	20,0	61,6
14	14 IV	контр.	2,75	6,93	5,40	54,5		1,53	16,2	
		опыт	1,75	8,25	6,00	60,0	11,1	2,25	23,8	47,0

Обсуждая полученные результаты, можно сказать, что количество нуклеиновых кислот при действии пилокарпина на околушные железы увеличивается: дезоксирибонуклеиновая кислота от 11 до 53%, в среднем на 27,8%; рибонуклеиновая кислота от 20 до 80%, в среднем на 40,8%.

Установив, что в секретирующих железах увеличивается количество нуклеиновых кислот, мы поставили себе вторую задачу исследовать содержание нуклеиновых кислот в слюнных железах после длительного раздражения секреторного нерва. Объектом была подчелюстная железа в период хордальной секреции.

Опыты производились на собаках (весом 8—16 кг) под морфинно-эфирхлороформным наркозом. Chorda tympani помещалась на погружном электроде и раздражалась фарадическим током от индукционного аппарата. Источником тока служил 2-вольтовый аккумулятор. Расстояние катушек 150—180 мм. Раздражение производилось в течение 3 час. с паузами в 20 сек. после каждой минуты раздражения.

Показателем хордальной секреции служило слюноотделение из подчелюстной железы через ввязанную в ее проток канюлю.

После трехчасового раздражения chordae tympani контрольную и опытную железы удаляли и обрабатывали, как указано выше.

Таблица 2

№№ опытов	Месяц и число	Условия эксперимента	Вес сухого «нуклео-протеида»	Колич. фосфора в 1 г сух. вещ. в мг	Дезоксирибонуклеиновая кислота (DNA)			Рибонуклеиновая кислота (RNA)		
					колич. фосфора DNA в 1 г сух. вещ. в мг	колич. DNA в мг	% увеличен. в опытах	колич. фосфора RNA в 1 г сух. вещ. в мг	колич. RNA в мг	% увеличен. в опытах
1947 г.										
1	20 V	контр.	0,1056	7,89	4,20	42,4		3,69	39,1	
2	25 V	опыт	0,1519	11,88	6,30	63,6	50,0	5,58	59,1	51,2
3	28 V	контр.	0,1944	8,07	4,65	47,0		3,42	36,2	
4	2 VI	опыт	0,1490	10,98	6,30	63,6	35,0	4,68	49,6	37,0
5	18 VI	контр.	0,2644	10,02	5,70	57,5		4,32	45,8	
6	20 VI	опыт	0,2172	12,27	7,05	71,2	23,7	5,22	55,3	20,8
7	27 XII	контр.	0,2323	9,06	5,10	51,5		3,96	42,0	
8	29 XII	опыт	0,2420	13,11	7,80	78,8	53,0	5,31	56,3	34,0
9	9 II	контр.	0,1634	9,12	6,15	62,1		2,97	31,5	
10	11 II	опыт	0,1687	11,88	8,10	81,8	31,7	3,78	40,1	27,2
11	13 II	контр.	0,100	8,22	3,00	30,3		5,22	55,3	
12	12 III	опыт	1,106	11,37	4,80	48,5	60,0	6,57	69,6	25,8
13	15 III	контр.	0,150	8,82	2,70	27,3		6,12	64,9	
14	18 III	опыт	0,250	10,02	3,45	34,9	27,7	6,57	69,6	7,5
		контр.	0,100	9,12	2,55	25,8		6,57	69,6	
		опыт	0,108	12,17	4,35	45,0	72,5	7,83	83,0	19,1
1948 г.										
9	9 II	контр.	0,100	11,04	5,10	51,5		5,94	62,9	
10	11 II	опыт	0,120	14,80	6,60	66,7	29,4	8,10	85,9	36,2
11	13 II	контр.	0,120	8,49	3,00	30,3		5,49	58,2	
12	12 III	опыт	0,140	12,66	5,10	51,5	70,0	7,56	80,2	37,7
13	15 III	контр.	0,150	9,42	4,20	42,4		5,22	55,3	
14	18 III	опыт	0,250	13,44	7,50	75,8	78,0	5,94	62,9	13,8
		контр.	0,230	9,06	5,10	51,5		3,96	42,0	
		опыт	0,190	11,97	5,40	54,6	6,0	6,57	69,6	66,0
		контр.	0,130	8,85	5,25	53,0		3,60	38,1	
		"	0,130	8,76	5,25	53,0	0,0	3,51	37,2	0,0
		"	0,130	8,01	4,95	51,0		3,06	32,4	
		"	0,130	8,16	5,10	51,5	2,0	3,06	32,4	0,0

В подчелюстной железе также увеличивается содержание нуклеиновых кислот. Это увеличение по дезоксирибонуклеиновой кислоте колеблется в пределах от 23,7 до 78%, в среднем 48,3%; по рибонуклеиновой кислоте от 19,1 до 66%, в среднем 31,4%.

Имеются данные, установленные А. Белозерским ⁽⁵⁾ на бактериях, что чем старше бактерии, тем содержание нуклеопротеидов ниже. У отдельных видов бактерий это снижение нуклеопротеидов довольно значительно.

Можно предполагать, что снижение нуклеопротеидов зависит от незначительной репродукции стареющих форм бактерий, а отсюда, надо полагать, и белковый синтез идет медленнее.

Е. Сергеев ⁽⁶⁾ установил, что количество нуклеопротеидного фосфора в животном организме при старении снижается. Им установлено, что это снижение нуклеопротеидного фосфора происходит на протяжении всей жизни как в целом организме, так и в отдельных органах (печень, мозг, мышцы), причем в опытах на крысах наибольшее снижение наблюдается в течение первых трех месяцев.

Выводы

1. Количество нуклеиновых кислот в составе околоушных желез под действием 1% пилокарпина увеличивается: по дезоксирибонуклеиновой кислоте от 11 до 53%, в среднем на 27,8%; по рибонуклеиновой кислоте от 20 до 80%, в среднем на 40,8%.

2. В подчелюстных железах при раздражении chordae tympani это увеличение нуклеиновых кислот колеблется в пределах: по дезоксирибонуклеиновой кислоте от 23,7 до 78%, в среднем 48,3%; по рибонуклеиновой кислоте от 19,1 до 66%, в среднем 31,4%.

3. Полученные количественные изменения нуклеиновых кислот в слюнных железах при секреции, повидимому, можно объяснить тем, что в синтезе белка участвуют нуклеиновые кислоты.

Институт биологической и медицинской химии
Академии медицинских наук СССР

Поступило
15 IX 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ T. Caspersson, H. Landström-Hyden и L. Aquilonius, *Chromosoma*, **2**, 111 (1941). ² A. Novikoff and R. Potter, *J. Biochem.*, **173**, 233 (1948).
³ G. Schmidt and S. J. Thannhauser, *ibid.*, **161**, 83 (1945). ⁴ С. Н. Fiske and V. Subbarow, *J. Biol. Chem.*, **66**, 375 (1925). ⁵ А. Белозерский, Доклад, прочитанный на премию им. М. В. Ломоносова, 1948. ⁶ Е. Сергеевко, Уч. зап. Харьковск. гос. ун-та им. А. М. Горького, **25**, 73 (1947).