

Л. И. ПАЛЛАДИНА и А. М. ГУДИНА

НЕКОТОРЫЕ ДАННЫЕ О ПРИРОДЕ БИОГЕННЫХ СТИМУЛЯТОРОВ

(Представлено академиком А. И. Опариным 12 IX 1952)

Химическая природа активно действующих веществ в экстрактах из консервированной трупной кожи, так же как и многих других биогенных стимуляторов, применяемых в медицине при тканевой терапии и в сельскохозяйственной практике, несмотря на все увеличивающийся интерес к ним, до сих пор еще окончательно не изучена.

Основными работами, посвященными изучению биогенных стимуляторов, являются работы В. П. Филатова и его учеников, установивших эффективное действие биогенных стимуляторов как животного, так и растительного происхождения при лечении целого ряда заболеваний.

В. П. Филатов и его ученики ⁽¹⁾, а также Благовещенский нашли в листьях алоэ накопление яблочной и винной кислот и ненасыщенных ароматических соединений (коричная, оксикоричная кислоты, кумарин и гуминовая кислота), а также образование кислот типа янтарной и щавелевой в жире из консервированной печени рыб; они приходят к выводу, что одной из групп биогенных стимуляторов являются дикарбоновые кислоты, ненасыщенные соединения типа кумарина, а также, на основании опытов Райта и Дорфмана, аспарагиновая кислота.

Ц. С. Лемберг ⁽⁴⁾ считает, что препараты тканевой терапии представляют сложный химический комплекс органических и минеральных веществ.

Таким образом, вопрос о химической природе биогенных стимуляторов еще далеко не разрешен; между тем, изучение этого вопроса имеет значительный теоретический и практический интерес. Поэтому мы занялись изучением химической природы биогенных стимуляторов в экстрактах из консервированной трупной кожи, полученной нами по методу В. П. Филатова.

Чтобы судить о влиянии на рост того или иного вещества, мы пользовались разработанным нами дрожжевым методом ⁽²⁾, который позволяет определить активность веществ по действию их на рост дрожжевых клеток. Кроме того, мы изучали стимулирующее влияние различных веществ на заживление кожных дефектов у кроликов. Наблюдения проводили на группах не меньше, чем по 18 кроликов, путем сравнения эффекта заживления у разных групп кроликов на 7-й день от начала лечения с контрольными и сравнения сроков окончательного заживления.

Испытывая эффективность действия целого ряда аминокислот, мы нашли, что наиболее активно действующими являются аргинин, аланин, аспарагиновая и глутаминовая кислоты.

Учитывая полученные нами данные о стимулирующем действии аргинина, а также литературные данные ⁽³⁾ об ускоряющем действии арги-

нина на рост тканей вообще и, в частности, на рост эпителия, мы занялись изучением роли аргинина в активации роста экстрактами из консервированной трупной кожи.

В кожном экстракте содержится аргинин, связанный и свободный. К этому заключению мы пришли, обнаружив после гидролиза большее количество аргинина, чем до гидролиза (аргинин определяли по методу Сакагухи). В тех случаях, когда мы подвергали кожный экстракт кипячению, гидролизу или обработке трипсином, т. е. когда мы имели дело только со свободным аргинином, активность кожных экстрактов сохранялась, и реакция на аргинин была положительной. Но если мы после этого подвергали кожный экстракт диализу, то он терял активирующее действие, так как в диализат переходил весь свободный аргинин, и реакция на аргинин была отрицательной.

Такой же результат получался и в том случае, если продиализированный кожный экстракт, т. е. содержащий только связанный аргинин, был подвергнут последующему кипячению. В этом случае со свернувшимся белком уносится связанный аргинин, и активность действия экстракта теряется, реакция на аргинин становится отрицательной (табл. 1).

Таблица 1

Серия кроликов	Препараты	Реакция на аргинин	% заживш. площади ран на 7-й день	
			средн. данные	мин. и макс.
1	Контроль (физ. раствор)		18	10—32
2	Кожный экстракт	+	58	38—73
3	Кожный экстракт прокипяч.	+	55	37—72
4	Кожный экстракт + трипсин	+	44	31—58
5	Кожный экстракт прокипяч. + + диализ	—	23	8—39
6	Кожный экстракт + диализ + ки- пяч.	—	13	9—16
7	Кожный экстракт + трипсин + + диализ	—	23	7—29

Из приведенных данных видно, что прокипяченный, гидролизированный, а также обработанный трипсином кожный экстракт активно действует и дает положительную реакцию на аргинин, но теряет активность после диализа, когда реакция на аргинин становится отрицательной.

Получив таким образом подтверждение того, что аргинин является одним из активирующих рост факторов в экстракте из консервированной трупной кожи, мы решили искать дальнейшее подтверждение этому в опытах с разрушением аргинина в кожном экстракте при помощи аргиназы. Эти опыты проводились следующим образом: кожный экстракт с добавкой препарата аргиназы помещали в термостат при 37° на 48 час. Контролем в наших опытах был экстракт с добавкой инактивированной аргиназы. Под воздействием аргиназы исчезала активация роста, и реакция на аргинин в опытной пробе всегда была отрицательной.

Добавляя к неактивному экстракту (с разрушенным аргинином) аргинин, нам удавалось восстановить активность кожного экстракта.

На основании проведенных нами исследований можно считать установленным, что аргинин является существенным фактором, обуславливающим активность экстракта из консервированной трупной кожи. Эти данные совпадают с указаниями, имеющимися в литературе. Так например, Ц. С. Лемберг (4) считает, что стимулирующее действие тканевых препаратов обусловлено, главным образом, азотсодержащими веществами. Имеющиеся в литературе указания о повышении активности роста

тканей (в тканевых культурах), содержащих аргинин, и о замедленном росте в присутствии аргиназы (5) также подтверждают наш вывод.

Следующие наши исследования были посвящены вопросу о том, каким образом действует аргинин на рост тканей — действует ли он всей своей молекулой или же в результате образования каких-то продуктов расщепления.

Расщепляя аргинин при помощи аргиназы на мочевину и орнитин, мы прежде всего проверили активность их стимулирующего действия на рост тканей. Оказалось, что оба эти продукта расщепления аргинина не влияют на интенсивность роста дрожжей. Однако, если мочевину подвергнуть 48-часовой инкубации в термостате при 37° с фосфатным буфером, то она дает значительное повышение активности роста тканей.

Эти опыты говорят о том, что мочевина служит источником образования стимулирующего рост вещества. Можно предположить, что веществом, возникающим при инкубации мочевины и активирующим рост тканей, является аммиак.

Нами были поставлены опыты, показавшие, что в пробах мочевины с фосфатным буфером при 48-часовой инкубации количество азота аммиака было во всех случаях выше, чем в пробах неинкубированных.

Таким образом, появилась мысль об определении роли аммиака в наших опытах. Это привело нас к необходимости заняться изучением стимулирующего действия аммиака на рост тканей. Добавляя к инактивированному экстракту из консервированной трупной кожи (с разрушенным аргинином) аргинин или углекислый аммоний, удалось восстановить потерянную активность при испытании на рост тканей.

Продолжая изучение активирующего действия углекислого аммония, мы выяснили при помощи дрожжевого метода, а также в опыте с экспериментальными ранами у кроликов (применяя раствор в виде примочек), что углекислый аммоний дает активность роста не меньшую, чем экстракт из консервированной трупной кожи (табл. 2 и 3).

Таблица 2

Высота дрожжевого столбика в мм

Контроль	Углекислый аммоний	Аргинин	Аммоний + аргинин
24	32	28	28
24	31	28	29
23	31	29	29
24	32	28	29
24	31	28	28

Таблица 3

Процент зажившей площади на 7-й день (средн. данные из 2 серий опытов по 30 кроликов в каждой)

Серия	Контроль	Экстракт	Аргинин	Аммоний	Аммоний + аргинин
1	39	69	64	77	73
2	48	56	54	58	55

В дальнейшем нами было установлено, что оптимальным стимулирующим действием обладает раствор углекислого аммония в концентрации 3 г в 1 л дистиллированной воды.

При лечении ожоговых язв у кроликов и у птиц (петухи) углекислый аммоний также в значительной степени способствовал более быстрому заживлению. Мы имели возможность убедиться в эффективности действия углекислого аммония при лечении ран, язв и ожогов и у людей.

Таким образом, мы пришли к заключению, что, кроме аргинина, действующим фактором в экстракте из консервированной трупной кожи является аммиак и образующие аммиак вещества.

Наши данные о роли углекислого аммония вполне согласуются с данными, имеющимися в литературе, говорящими о том, что личинки мясной мухи, наложенные на рану, способствуют заживлению ран. При

анализе секретов хирургических личинок был обнаружен в большом количестве двууглекислый аммоний.

Г. Е. Владимиров⁽⁶⁾, а также В. И. Панисяк⁽⁷⁾ в сотрудничестве с И. Ф. Березиным⁽⁸⁾ и Ломовцовой изучали лечебное действие двууглекислого аммония. Полученный эффект при лечении они объясняют щелочными свойствами этого вещества.

Итак, не только наши исследования, но и приведенные нами литературные данные говорят об эффективности действия углекислого аммония при лечении ран.

Это еще раз указывает на то, что ионы аммония, содержащиеся в экстракте из консервированной трупной кожи в довольно больших концентрациях, являются весьма существенным действующим началом, ускоряющим заживление ран.

Институт биохимии
Академии наук УССР

Поступило
12 IX 1952

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. П. Филатов, Сборн., посвящ. 75-летию В. П. Филатова, 1950. ² Л. И. Палладина, А. М. Гудина, Врачебн. дело, **3**, 227 (1950). ³ С. Tarantino, Rev. Biochem., **125**, Н. 3—4, 131 (1941). ⁴ Ц. С. Лемберг, Бюлл. эксп. биол. и мед., **23**, 2, 91 (1947). ⁵ S. J. Vach, I. Lasnitzki, Biochem. J., **40**, 4, 48 (1946). ⁶ Г. Е. Владимиров, Сборн. рефер. научн. работ за 1942 г., 1945. ⁷ В. И. Панисяк, Тр. респ. сессии Туркмен. научно-мед. об-ва и госпитальн. совета НКЗ ТССР, Ашхабад, 1942. ⁸ И. Ф. Березин, В. И. Панисяк, там же.