

М. Л. РОХЛИНА

## ЗНАЧЕНИЕ ВИТАМИНА В<sub>2</sub> ДЛЯ ЗРИТЕЛЬНОГО АНАЛИЗАТОРА

(Представлено академиком К. М. Быковым 18 XI 1952)

И. П. Павлов указывал: «Перед исследователями встает вопрос точно определить работу анализаторных приборов, проследить все вариации в их деятельности в случае того или иного полома» (1). Для функции зрительного анализатора очень важное и разнообразное значение имеют витамин А, С, В<sub>1</sub>, РР и В<sub>2</sub>. Исследования значения витаминов для зрительного анализатора в норме и патологии служат выполнению этого указания И. П. Павлова.

Особое значение для зрительного анализатора имеет витамин В<sub>2</sub> — рибофлавин. Витамин В<sub>2</sub> входит в активную группу разнообразных ферментов, участвующих в окислительно-восстановительных процессах, а также в углеводном и белковом обмене.

Витамин В<sub>2</sub> находится в значительном количестве в разных тканях глаза животных и человека. Так, в тканях глаза быка обнаружен витамин В<sub>2</sub> (в  $\gamma$  на 1 г веса): в конъюнктиве склеры и роговичном эпителии 2,0, в строме роговицы 0,2, в мейбомиевых железах без секрета 4,0, в слезной железе 6,5 и в сетчатке 4,0.

Долгое время спорным вопросом было, содержится ли витамин В<sub>2</sub> в хрусталике. В настоящее время установлено (2) довольно значительное количество рибофлавина в прозрачных хрусталиках человека и отсутствие его в мутных (катарактальных) хрусталиках. Витамин В<sub>2</sub> необходим для дыхания бессосудистых тканей, например хрусталика и роговой оболочки.

Симптомы авитаминоза В<sub>2</sub> проявляются раньше всего в глазу, в бессосудистых тканях. Авитаминоз В<sub>2</sub> — арибофлавиноз вызывает значительное снижение потребления кислорода, вследствие чего происходит тканевая асфиксия, вызывающая помутнение роговицы; защитной реакцией является пролиферация сосудов краевой петливой сети, после чего кислород поступает в роговицу из капилляров. Поэтому васкуляризацию роговицы принято считать симптомом авитаминоза В<sub>2</sub>.

Установлено закономерное отсутствие витамина В<sub>2</sub> в крови и моче при раковых опухолях век глаза, а после удаления этой раковой опухоли обнаружено появление и постепенное нарастание рибофлавина (2).

При авитаминозе В<sub>2</sub> происходят глубокие дегенеративные изменения в сетчатке: наблюдается светобоязнь, понижение зрения, ослабление сумеречного зрения, быстрая утомляемость, затуманивание. Эти симптомы свидетельствуют о том, что витамин В<sub>2</sub> имеет также непосредственное отношение к функциональному состоянию сетчатки, т. е. зрительно-нервного прибора.

Во всех органах, а также в хрусталике и роговице витамин В<sub>2</sub> находится в виде высокомолекулярного соединения с белком, а в сетчатке —

также в виде свободного флавина, обладающего флуоресценцией в ультрафиолетовых лучах и высокой фотохимической чувствительностью. Наличие свободного флавина в сетчатке связано, по видимому, с тем, что он принимает участие в зрительном акте. Относительно роли витамина  $B_2$  в сетчатке был высказан ряд противоречивых и недостаточно обоснованных гипотез. Эйлер и Адлер считали, что коротковолновые синие лучи превращаются под влиянием флавина в зеленый флуоресцирующий свет, к которому человеческий глаз особо чувствителен <sup>(5)</sup>.

Согласно другой теории, флавин, благодаря своим окислительно-восстановительным свойствам, принимает участие в синтезе и регенерации родопсина — зрительного пурпура из витамина А <sup>(6, 7)</sup>.

Исследованиями, проведенными в нашей лаборатории Б. С. Голынской, установлено, что при введении витамина  $B_2$  — рибофлавина у гипорибофлавинозных больных повышается светочувствительность, причем в ряде случаев после применения рибофлавина адаптация значительно превышает нормальную. Рибофлавин усиливает также цветное зрение, колбочковую чувствительность, причем чувствительность к зеленому цвету повышается сильнее, чем к красному.

На основании приведенных данных о значении витамина  $B_2$  для зрительного анализатора встает новая задача исследований, соответственно указанию И. П. Павлова: «выяснить, что следует отнести на счет конструкции и процесса в периферическом аппарате и что на счет конструкции и процесса в мозговом конце анализатора». С этой целью мы исследовали содержание витамина  $B_2$  в сетчатке (после темновой и световой адаптации, а также после освещения зеленым и красным светом) методом люминесцентной микроскопии. При этом мы пользовались люминесцентной установкой, сконструированной нашим старшим научным сотрудником О. А. Петровской. Ею установлена флуоресценция витамина А в виде ярко зеленых капель в пигментном эпителии светлоадаптированных животных (см. рис. 1 и 2 на вклейке) и отсутствие витамина А после темновой адаптации, во время которой он используется для регенерации родопсина.

Витамин  $B_2$  в чистом виде ярко и устойчиво флуоресцирует в ультрафиолетовых лучах светлозеленым или салатным цветом, а в комплексной форме — устойчивым желто-зеленым цветом. Нами были проведены исследования витамина  $B_2$  в сетчатке лягушек (нормальных, получавших дополнительно витамин  $B_2$  или витамин А) и крыс (нормальных,  $B_2$ -авитаминозных и получавших дополнительно витамин  $B_2$ ). У каждого животного мы изучали тотальную сетчатку одного глаза и срезы сетчатки другого глаза, сделанные на замораживающем микротоме. У контрольных лягушек после световой адаптации мы наблюдали в пигментном эпителии в ультрафиолетовом свете флуоресценцию быстро затухающих капель витамина А. Пигмент спускается до основания наружного слоя палочек и колбочек. Последние флуоресцируют бледным голубоватым цветом. У лягушек, получавших в течение 6—10 дней по 0,1 мг витамина  $B_2$ , после световой адаптации мы наблюдали на срезах (кроме флуоресценции витамина А в пигментном эпителии) устойчивую светлую желтовато-зеленую флуоресценцию слоя палочек и колбочек (см. рис. 3). А у лягушек, получавших дополнительно в течение 3—5 дней витамин А (по 0,01 мг), мы наблюдали очень яркую флуоресценцию капель витамина А в пигментном эпителии; флуоресценция слоя палочек и колбочек была ярче, чем у нормальных, но значительно слабее, чем у получавших витамин  $B_2$ .

После темновой адаптации (в течение 3 час., 24 час. или 3 суток) мы наблюдали у лягушек, получавших витамин  $B_2$ , на срезах сетчатки устойчивую флуоресценцию слоя палочек и колбочек светлосалатного цвета. Пигмент скапливается над слоем палочек и колбочек. В пигментном эпителии светились мельчайшие светлозеленые капли витамина  $B_2$ .

Совсем иной характер имели срезы сетчатки лягушек темноадаптированных, получавших дополнительно витамин А; мы наблюдали только иногда слабую флуоресценцию незначительного количества зеленых капель витамина А в пигментном эпителии. Слой палочек и колбочек слабо светился бледно-голубым светом.

Таким образом, в отличие от витамина А, находящегося в пигментном эпителии, витамин В<sub>2</sub> находится также непосредственно в слое палочек и колбочек. После темновой адаптации витамин А используется для синтеза родопсина, а витамин В<sub>2</sub>, повидимому, накапливается в слое палочек и колбочек. Витамин В<sub>2</sub> расходуется, повидимому, во время световой адаптации. Особый интерес представляют исследования сетчатки лягушек после зеленого и красного освещения подравненной яркости. Мы помещали лягушек в аквариумы из зеленого или красного стекла, освещавшиеся в течение 3 час., а затем исследовали сетчатку методом люминесцентной микроскопии. В сетчатке глаз нормальных лягушек, находившихся при зеленом освещении, пигмент спускался до основания слоя палочек и колбочек. В пигментном эпителии ярко флуоресцировали капли витамина А, а слой палочек и колбочек светился слабоголубым цветом. У лягушек, получавших дополнительно в течение 3 суток витамин А (по 0,01 мг), после 3 час. зеленого освещения мы наблюдали на срезах сетчатки яркую флуоресценцию в пигментном эпителии капель витамина А, а также более яркую флуоресценцию слоя палочек и колбочек, совершенно аналогичную флуоресценции сетчатки А-гипервитаминизированных лягушек после 3-часовой световой адаптации (см. рис. 4, I). После 3-часового зеленого освещения лягушек, получавших по 0,1 мг витамина В<sub>2</sub> в течение 9 дней, мы наблюдали в пигментном эпителии, кроме затухающих капель витамина А, ярко светящиеся капли витамина В<sub>2</sub>. Слой палочек и колбочек постепенно светлел и светился значительно ярче, чем у нормальных лягушек.

Совершенно иное действие оказывает на сетчатку красный свет. После 3 час. освещения лягушек в красном свете в пигментном эпителии в сетчатке в ультрафиолетовых лучах светятся только немногочисленные, редкие, быстро затухающие капли витамина А. Пигмент не спускался в слой палочек и колбочек (рис. 4, II). У нормальных лягушек после красного освещения слой палочек и колбочек совсем не светился, а у лягушек, получавших предварительно витамин В<sub>2</sub>, слой палочек и колбочек иногда слабо флуоресцировал зеленоватым или голубоватым светом, но значительно слабее, чем у лягушек, адаптированных на свету или к зеленому свету.

Эти опыты устанавливают аналогичный характер флуоресценции витаминов А и В<sub>2</sub> после освещения зеленым и белым светом и значительно более слабое действие красного света на распад зрительного пурпура и выделение витамина А.

Изложенные данные проведенных нами исследований устанавливают присутствие витамина В<sub>2</sub> в слое палочек и колбочек у лягушек.

Нами были проведены также исследования сетчатки крыс: В<sub>2</sub>-авитаминозных, получавших дополнительно витамин В<sub>2</sub>, и контрольных. Одна группа крыс, находившихся на В<sub>2</sub>-авитаминозной диете, получала 18% белка, II группа крыс не получала белка. Через 18—20 дней крысы II группы потеряли до 50% веса. Несмотря на разное состояние крыс I и II группы, мы не наблюдали различия в срезах сетчатки при исследовании методом люминесцентной микроскопии. После световой адаптации ярким светло-голубым цветом в виде тонкой полоски флуоресцировал слой пигментного эпителия (в котором у крыс отсутствует пигмент). По пигментному эпителию в виде нитки бус расположены быстро затухающие капли витамина А. Слой палочек и колбочек у большинства крыс был невидим, иногда он светился еле заметным голубым светом. У контрольных крыс мы иногда наблюдали флуоресценцию слоя палочек

и колбочек желтовато-зеленого цвета. У крыс, получавших в течение 6 дней витамин В<sub>2</sub> (0,1 мг), мы всегда наблюдали после световой и темновой адаптации устойчивую диффузную флуоресценцию желтовато-зеленого цвета слоя палочек и колбочек.

Таким образом, исследования методом люминесцентной микроскопии приводят к выводу, что витамин В<sub>2</sub> находится в сетчатке крыс в слое палочек и колбочек. Проведенными одновременно биохимическими исследованиями содержания витамина В<sub>2</sub> в свободном виде в сетчатке крыс установлено значительно большее содержание витамина В<sub>2</sub> после темновой адаптации (в среднем 1,54 γ), чем после световой адаптации (в среднем 0,63 γ — А. И. Фрид). У крыс, получавших дополнительно витамин В<sub>2</sub> (по 0,1 мг) в течение 10—15 дней, после темновой адаптации также было установлено более высокое содержание свободного флавина (в среднем 2,23 γ), чем после световой адаптации (в среднем 1,01 γ). Эти данные указывают на то, что витамин В<sub>2</sub> расходуется во время световой адаптации\*.

Затем были проведены исследования содержания витамина В<sub>2</sub> в сетчатке крыс после их адаптации в зеленом и красном свете. Установлено более высокое содержание витамина В<sub>2</sub> в свободном виде (2,24 γ) после освещения в красном свете, чем после освещения в зеленом (1,35 γ).

Эти данные соответствуют нашим исследованиям, проведенным методом люминесцентной микроскопии, при которых было установлено, что зеленый свет действует подобно белому свету и вызывает распад зрительного пурпура. Биохимические исследования подтверждают расходование витамина В<sub>2</sub> при зеленом свете аналогично его расходованию при белом свете.

Приведенные данные свидетельствуют об участии витамина В<sub>2</sub> в функции зрительно-нервного прибора в световой и цветовой чувствительности. Витамин В<sub>2</sub>, участвующий в обмене веществ в организме и имеющий при этом очень важное значение для обмена веществ в коре головного мозга, наряду с этим оказывает непосредственное влияние на нейроэпителий сетчатки, повышая светочувствительность и цветочувствительность, т. е. действует «за счет конструкции и процесса в периферическом аппарате» (И. П. Павлов).

Государственный научно-исследовательский  
институт глазных болезней  
им. Гельмгольца

Поступило  
4 VI 1952

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> И. П. Павлов, Полн. собр. труд., 3, стр. 175. <sup>2</sup> Я. А. Каган, Вестн. офтальмологи, № 1 (1951). <sup>3</sup> О. А. Петровская, Бюлл. экп. биол. и мед., № 5 (1949). <sup>4</sup> О. А. Петровская, Проблемы физиол. оптики, 10 (1952). <sup>5</sup> H. V. Euler, E. Adler, Z. phys. Chem., 228, 1 (1934). <sup>6</sup> A. Chase, Science, 85, 484 (1937). <sup>7</sup> R. A. Morton, Nature, 153, No. 3872 (1944).

\* Исследования проводились по методу, разработанному К. В. Поволоцкой, и при ее консультации, за что мы выражаем ей благодарность.

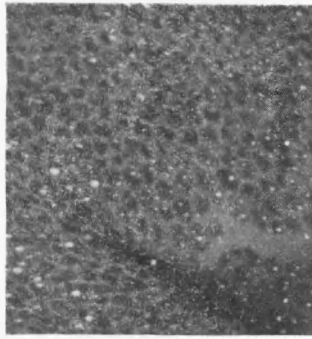


Рис. 1. Флуоресценция витамина А в ультрафиолетовых лучах (после световой адаптации) в пигментном эпителии в тотальной сетчатке: светящиеся капли витамина А в клетках пигментного эпителия

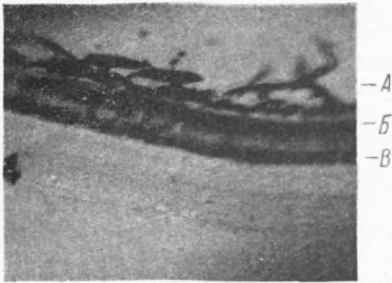


Рис. 2. Срез сетчатки лягушки после световой адаптации. А — пигментный эпителий, в котором светятся капли витамина А; Б — слой палочек и колбочек; В — наружный и внутренний ретикулярные слои

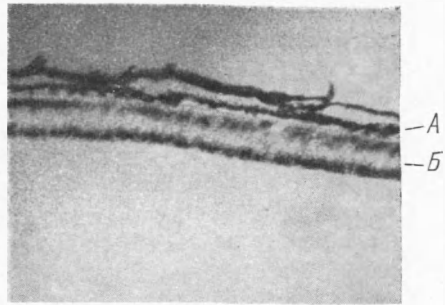


Рис. 3. Срез сетчатки лягушки, получавшей дополнительно витамин В<sub>2</sub> после световой адаптации. А — пигментный эпителий, в котором светятся капли витамина А; Б — слой палочек и колбочек, в котором устойчиво светится витамин В<sub>2</sub>

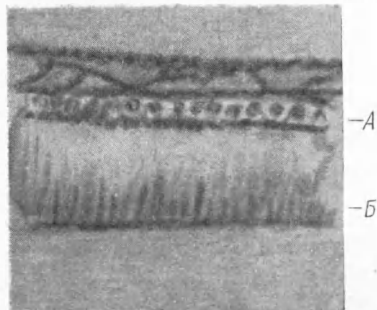
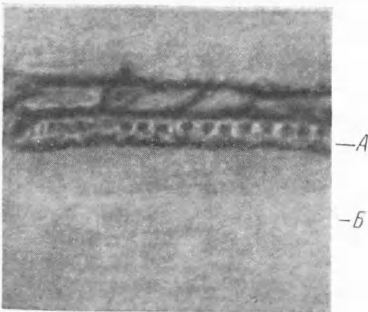


Рис. 4. Срез сетчатки лягушки. I — после освещения зеленым светом, II — после освещения красным светом. А — пигментный эпителий, в котором светятся капли витамина А; Б — слой палочек и колбочек.  
Рисунки