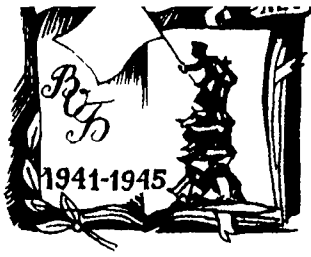


P183442

А. И. Л. ГУРВИЧ

МИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ

НАРКОМЗДРАВ СССР
• М Е Д Г И З •
1948



МИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ
ИЗЛУЧЕНИЕ
ФИЗИКО - ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ
И ПРИЛОЖЕНИЯ
В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

183442
244381

НАРКОМЗДРАВ СССР
ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО
МЕДИЦИНСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ
«МЕДГИЗ» — 1945 — МОСКВА

Редактор
Л. Я. Бляхер
Технический редактор
А. Ефимова

Л85631 Подп. к печ. 4/XII 1944 г.
Форм. б. 60×92/16. П. л. 17, 75.
Уч. ав. л. 25,25 Зн. в 1 и. л. 56900.
Тир. 2000 экз. Цена 35 руб.

Тип. «Красное знамя»
Москва, Сушешокая, 21. Зак. 1098

ПРЕДИСЛОВИЕ

При составлении предлагаемой книги перед нами стоял выбор между двумя возможностями. Дополнить и модернизировать вышедшую в 1934 г. вторым изданием монографию. При исчерпывающей полноте изложения, охватывающего весь материал, добытый в многолетней работе, монография, написанная по этому плану, должна была бы, однако, почти удвоиться в объеме, что сделало бы ее неудобочитаемой. После некоторых колебаний авторы решили поэтому идти другим путем, продиктованным следующими соображениями.

Нет особенной необходимости сводить в монографию весь разнообразный, логически часто не связанный, трудно обозримый эмпирический материал, представляющий сравнительно мало интереса для неспециалиста. Но тем более важна для понимания сущности новой дисциплины углубленная трактовка основных биологических и отчасти физико-химических проблем, вытекающих из проблемы митогенетического излучения или связанных с ней.

В соответствии с этим соображением монография посвящена нескольким, по существу не связанным друг с другом, основным проблемам, относящимся к физике, химии, биологии, патологии и медицине.

Авторы не ожидают, что найдется много читателей, которые с одинаковым интересом и пониманием прочтут всю книгу. Онкологов вряд ли в достаточной мере заинтересуют довольно сложные физико-химические соображения первых глав, и в равной степени будут чужды для физико-химика сложные проблемы клеточного деления, онкологии и т. д. Но вместе с тем каждый из читателей найдет возможно углубленную и исчерпывающую трактовку специально интересующей его проблемы.

При выполнении этого заманчивого плана встретилось, однако, одно существенное затруднение: от читателей нельзя, конечно, требовать знания тех элементов учения о митогенетическом излучении, которые, безусловно, необходимы для понимания специальных вопросов.

Краткое элементарное введение пропедевтического характера представлялось авторам мало целесообразным и плохо гармонирующим с общим характером книги. Вместе с тем необходимо было дать возможность читателю испытать собственные силы в новой области. Это возможно лишь при детальном изложении всей митогенетической методики. Поэтому мы посвятили последнюю, не связанную со всем остальным текстом главу изложению всех технических деталей, тесно связанных с элементарными данными о сущности основного митогенетического эффекта. В ней не знакомые с элементами митогенеза читатели найдут все сведения, необходимые для понимания специальных проблем.

Глава, посвященная нервной системе, написана А. А. Гурвичем.

ВВЕДЕНИЕ

Митогенетическая проблема с самого начала своего возникновения и за все время своего существования стояла и стоит вне рамок классических дисциплин.

То обстоятельство, что самый факт излучения, т. е. физический феномен, был обнаружен, исходя из цитологических соображений, конечно, сам по себе еще недостаточен для объяснения этого несколько ненормального положения. Оно создано скорее именно благодаря тому, что в дальнейшем цитология уже не играла сколько-нибудь существенной роли и задачи чисто физического, химического и отчасти микробиологического характера выступили тотчас же на первый план и легли на плечи не подготовленных к ним биологов.

Это обстоятельство и является в значительной степени причиной неупорядоченного и непоследовательного развития новой области.

Существуют, однако, и иные, более глубокие причины своеобразного положения нового учения среди смежных дисциплин.

В любой частной области применения митогенетические методы приводят к неклассическим результатам, трудно согласуемым и порой даже не совместимым с господствующими в данной дисциплине взглядами и теоретическими представлениями.

Новые результаты не могут поэтому, как правило, легко и просто влиться в стройную систему той или иной науки. Во многих случаях классические представления и результаты, основанные на изучении митогенеза, могут быть объединены лишь при одном условии — перестройке, и нередко радикальной перестройке, установившихся и в силу этого нередко несколько догматизированных представлений.

Вполне естественно, что этот постулат встречает в большинстве случаев решительный отпор и что большинство представителей основных дисциплин предпочитает вовсе игнорировать выводы из митогенетических исследований. Поэтому нам приходится идти своим собственным путем и строить, например, помимо классической физиологии нервной системы, свою собственную «митогенетическую».

В аналогичном отношении к классическим представлениям о ферментах находятся и наши выводы в этой области.

Игнорирование результатов классического и митогенетического направлений не взаимно. Было бы, конечно, безумием со стороны представителей нового, только еще создающегося направления не считаться со строго установленными фактами и законами грандиозного здания современной науки.

Другое дело теории, входящие в состав того или иного, даже и господствующего направления в науке.

Теория всегда остается гипотезой, стремящейся объединить возможно больший круг явлений, вполне удовлетворительной сегодня и могущей оказаться непригодной в ближайшем будущем.

Громадная масса разнообразных, обнаруженных митогенетическим методом фактов плохо или совсем не укладывается именно в такие теории.

Перед нами возникает поэтому следующая альтернатива.

Можно попытаться выполнить ту работу, от которой отказываются представители классического направления, т. е. приступить к созданию теории, могущей объединить классические и митогенетические данные. Так, например, в области нервной физиологии речь шла бы об объединении данных, касающихся «возбуждения», как оно понимается обычно (главным образом в результате анализа токов действия) и в свете митогенетических явлений в возбужденном нерве и мозговой коре.

Желательность такой попытки, конечно, не подлежит сомнению. Но следует с полной откровенностью сказать, что она выходит далеко за пределы компетенции работников, уделяющих все свои силы и внимание проблемам митогенеза.

Практически осуществим в большинстве случаев лишь другой путь. Исследование остается в рамках митогенетически возможного и достижимого; полученные факты обобщаются в теоретические построения, которые должны удовлетворять двум требованиям:

1) не противоречить твердо установленным фактам классического направления;

2) обладать действительной объяснительной силой или давать возможность для экспериментальной проверки и дальнейшей работы.

Выполнение второго требования, безусловно, обязательно для всякой научной теории. Первое может вызвать в некоторых случаях известные сомнения, так как возникает вопрос, не нуждается ли в коренном пересмотре и самый «твердо установленный» факт. Такие примеры, конечно, известны в науке.

Из всего предшествующего ясно, что мы силой обстоятельств были вынуждены стать на путь второй альтернативы, т. е. отказаться пока от попыток объединения наших и классических данных в одном общем теоретическом построении и удовольствоваться тем, чтобы наши представления не противоречили ранее установленным фактам.

Переходим теперь к важнейшему вопросу.

В чем состоит «неклассичность» результатов, а следовательно, и толкований в области митогенетических феноменов?

Ответ в самой общей форме довольно прост. Митогенетическим методом обнаруживается ряд микроявлений физического, химического и биологического порядка, не обнаруживаемых классическими методами и поэтому неизвестных классической науке.

В ряде случаев эти микроявления правдоподобны с классической точки зрения, их существование иногда даже предполагалось. Поэтому они могли бы легко ассимилироваться основными построениями данной дисциплины, не претерпевающей при этом никакой ломки или даже принципиального расширения своих основных позиций.

К этой категории принадлежат физические проблемы.

Но в большинстве случаев такая ассимиляция возможна лишь при условии значительных сдвигов установившихся основных понятий.

Это относится в первую очередь к биохимическим и почти в равной мере и к некоторым биологическим проблемам.

Мы постараемся вскрыть причины этих различий. Для этого мы должны несколько точнее сформулировать самое понятие «микроявления» в нашем смысле этого слова.

Митогенетический метод вскрывает при самых различных обстоятельствах наличие чрезвычайно редких, т. е. статистически маловероятных, атомных и молекулярных процессов.

Слово «маловероятных» показывает, что эти процессы с точки зрения современной физики все же возможны и что их вероятность даже поддается исчислению, т. е. количественному определению. Этим и обуславливается тот факт, что митогенетические данные встречают наименьшие возражения именно со стороны физики. Это не значит, впрочем, что речь идет лишь об экспериментальном митогенетическом подтверждении уже сформулированных заранее, готовых теоретических представлений физики. Наоборот, в большинстве случаев результаты митогенетических исследований несколько неожиданны для физиков, но благодаря своему характеру без особого затруднения укладываются в готовые юбщие схемы.

Может ли в том или ином случае понадобиться расширение таких схем, сказать в настоящее время трудно. Но уже теперь путем митогенетического анализа установлены некоторые новые физические факты.

Четкость и относительная однозначность, которые присущи физическим формулировкам атомных и молекулярных процессов и которые создают благоприятные предпосылки для ассимиляции митогенетических данных, в значительной мере затушевываются в химических и особенно биохимических, в частности, ферментативных, явлениях в их теоретическом толковании.

Высказаться относительно возможности или невозможности, или даже вероятности того или иного процесса химического расщепления или ресинтеза возможно исключительно с энергетической, т. е. в сущности опять-таки физической, точки зрения. Одна-

ко если предполагаемый процесс термодинамически и возможен, то при трактовке биохимических, в особенности ферментологических, проблем возникают новые трудности, отсутствовавшие в чисто физических явлениях. В области проблем биохимических и ферментологических не существует достаточно четких и однозначных представлений об отдельных элементарных актах, которые могли бы дать возможность для мотивированного положительного или отрицательного отношения к митогенетическим данным. Во многих случаях нельзя даже оценить степень вероятности или правдоподобия того или иного энергетически возможного предположения, так как и классические представления о промежуточных звеньях реакций далеки от определенности.

Даже на таком простом примере, как система уреазы + мочевины, твердо установленными являются лишь конечные итоги всей последовательности реактивных процессов — расщепление мочевины с присоединением воды на углекислоту и аммиак. Промежуточные звенья, т. е. самый ход реакции, остаются пока совершенно невыясненными. Представим себе теперь, что митогенетическим методом обнаруживаются (по крайней мере некоторые промежуточные звенья реакции с ничтожным «временем жизни», находящиеся поэтому в очень слабых концентрациях (радикалы).

Мы считаем, что в случае, если нет возражений термодинамического порядка, классическая химия не имеет никаких оснований отбрасывать то или иное толкование митогенетических результатов (т. е. в данном случае появление радикалов) лишь потому, что ей самой ничего не известно относительно промежуточных звеньев реакции. С другой стороны, те теоретические построения, которые возникают из митогенетических данных, основываются не на химических, а скорее на физических данных и на соображениях, приемлемых для физики.

В более конкретной формулировке мы можем охарактеризовать отношение результатов митогенетического анализа к классической биохимии следующим образом.

Митогенетический анализ вводит в обиход химии новые данные и новые понятия, охарактеризованные до настоящего времени (а, быть может, и вообще характеризруемые) не химическими методами.

Но в самом таком факте нет ничего принципиально нового: достаточно вспомнить классический спектральный анализ, радиоактивность, обнаружение изотопов в качестве примеров физической трактовки химических данных, чтобы понять, что вводимые на основании экспериментальных митогенетических данных новые понятия должны быть рано или поздно ассимилированы биохимией.

Однако новизна митогенетических данных еще далеко не исчерпывает их «неклассичности» для биохимии.

Наиболее трудно приемлемым и в то же время существенным является следующее обстоятельство.

Классическая химия игнорирует, по крайней мере в первом приближении, статистический характер, т. е. большую или меньшую

вероятность регистрируемых ею, протекающих в одной системе реакций. Предполагается, что в системе A, B, C совершаются исключительно определенные реакции $A + B, C + D$ и т. д. всеми вообще способными к реагированию (активированными) элементами.

Митогенетический анализ вводит здесь совершенно новый момент: регистрируемые обычно реакции $A + B, C + D$ являются лишь наиболее вероятными и поэтому статистически преобладающими. Но наряду с ними протекают и другие маловероятные реакции: $A + C, C + B$, регистрируемые лишь митогенетическим путем.

Эти реакции, вследствие того, что они статистически очень редки, не отзываются на валовом энергетическом балансе реагирующей системы и на выходе реакции, определяемой химическими путями. Но из этого еще не вытекает, что ими можно пренебречь, как это, повидимому, склонны делать представители классической биохимии.

Наблюдаемые митогенетическим путем химические микроявления имеют не только чисто теоретический интерес. Они не отделены глухим барьером от фактов и теорий классической химии в применении к биологическим процессам. Во многих, биологически важных случаях они являются стартом для чрезвычайно продуктивных цепных реакций, приводящих к макроявлениям основной важности, прежде всего к клеточному делению.

В настоящее время уже не может быть сомнения в том, что процесс клеточного деления находится под непрерывным контролем митогенетического излучения, т. е. что участие нескольких десятков ультрафиолетовых фотонов является для него необходимой предпосылкой.

Вместе с тем совершенно очевидно, что непосредственным следствием поглощения фотонов, т. е. первичным процессом, могут быть фотохимические изменения лишь нескольких десятков молекул клетки, поглотивших фотоны, т. е. одно из тех микроявлений, которые дополняют картину и представления классической химии. И именно они являются стартом для цепных реакций, приводящих к макроявлениям.

В переходе обнаруживаемых лишь митогенетическими методами неклассических микроявлений в основные, общеизвестные биологические явления (макроэффекты) и заключается основная сущность и интерес того класса явлений, для которого пока не существует подходящего и грамматически правильного обозначения, и поэтому нами употребляется термин «митогенез».

Однако и микроявления имеют в области организованных систем совсем особое, быть может, гораздо большее значение, чем в неорганизованных, гомогенных системах.

Они являются мощным орудием анализа процессов первостепенной важности, недоступных обычным методам. Речь идет при этом не только о большей чувствительности митогенетического метода по сравнению с другими, но главным образом об его однозначности и, если можно так выразиться, большей прозрачности. Действительно, вся физическая картина возникновения фотона вполне

однозначна, т. е. сводится к вполне определенным процессам в молекуле. Поэтому анализ излучения системы может стать при определенных условиях ее «молекулярным анализом» и позволяет нам проникнуть в молекулярные взаимоотношения совершенно своеобразного, нехимического характера.

Использование этого метода и дало нам возможность перестроить наши представления о нервном возбуждении и очертить основы физиологической теории протоплазмы, теории биологического поля и отчасти проблемы рака.

ЧАСТЬ ПЕРВАЯ

НЕОРГАНИЗОВАННЫЕ (ГОМОГЕННЫЕ) СИСТЕМЫ

ГЛАВА ПЕРВАЯ

ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

А. ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ БАЛАНС ИЗЛУЧЕНИЯ

Митогенетическое излучение есть ультрафиолетовое излучение в ближней и средней области, возникающее при экзотермических химических реакциях.

Хемофлюоресценция в области видимого света хорошо известна. Достаточно вспомнить, если обратиться к организованным системам, свечение многочисленных животных и растительных организмов. Хотя энергетическая основа для такого рода свечения остается до сих пор, по видимому, неизученной, однако вряд ли здесь пришлось бы преодолеть особые трудности.

Но хемолуминесценция в среднем и даже сравнительно дальнем ультрафиолете представлялась на основании чисто энергетических соображений крайне маловероятной, так как фотоны ультрафиолета соответствуют калорийности, превышающей на много 100 килокалорий, т. е. не соответствующей известным в химии органическим реакциям.

Между тем митогенетическое излучение было обнаружено и специально изучалось на ферментативных реакциях с ничтожным валовым тепловым эффектом в несколько килокалорий, а в некоторых случаях (даже с отрицательной теплотностью)¹.

Поэтому объяснение возможности появления митогенетического излучения представляет трудную проблему, принципиальное разрешение которой стало возможным лишь за последние годы, хотя основное положение, которое вывело нас, по видимому, на правильный путь, было высказано фотохимиком Франкенбургером еще в 1934 г. |

¹ Наряду с изучением излучения ферментативных реакций Браунштейном и Поточкой изучены спектры излучения ряда простых неорганических систем. Ряд аналогичных данных был получен и другими авторами [Ж. и М. Магру, Зиберт и Одюбер (J. et M. Magrou, Siebert, Audubert)]. Для получения длительного равномерного излучения реакция производится обычно в сосуде с кварцевым дном и с отливом. Вступающие в реакцию растворы поступают непрерывной тонкой струей или каплями в сосуд, где и происходит реакция. Наиболее удобными и удобны две введенные Браунштейном и Поточкой системы: $K_2Cr_2O_7 + FeSO_4$ и $H_2O_2 + KMnO_4$.

Весь вопрос находился тогда, если можно так выразиться, вне сферы наших биологических интересов, что является, конечно, грубым упущением с нашей стороны.

Франкенбургер, исходя от очень слабой теплотности дающих митогенетическое излучение реакций и принимая вместе с тем во внимание ничтожную интенсивность излучения¹, пришел к выводу, что единственным вообще мыслимым энергетическим источником излучения могут быть лишь какие-то сопровождающие и при этом столь редкие процессы с очень высокой теплотностью, что они не отражаются сколько-нибудь заметным образом на валовом термическом балансе реакции.

Таковыми процессами могут быть, по мнению автора, лишь рекомбинации радикалов, появляющихся в ничтожных количествах при ферментативных реакциях. Если остановиться при этом на наиболее простых радикалах и атомах, а именно на ОН, О и Н, то максимальная теплотность, достижимая при их рекомбинациях, и именно $O+O \rightarrow H_2O$ 118 ккал, оказывается, однако, достаточной лишь для объяснения возникновения длинноволновой части митогенетического спектра, т. е. до границы 2400 Å в коротковолновую сторону. Энергия, освобождающаяся при рекомбинации радикалов, согласно представлению Франкенбургера, не излучается непосредственно: как правило, она поглощается теми или иными из молекул субстратов реакции и испускается ими в виде флюоресценции с характерным для них спектральным составом. Автор приходит к последнему выводу на основании большого разнообразия полученных нами митогенетических спектров. Гипотеза Франкенбургера заключает, таким образом, в себе два допущения: появление при разбираемых реакциях свободных радикалов (атомов) и поглощение энергии их рекомбинации молекулами того или другого субстрата реагирующей системы.

Оба эти допущения доступны экспериментальной проверке и действительно подтверждаются на опыте, несмотря на то, что в обосновании самого Франкенбургера не все обстоит вполне благополучно.

В основной предпосылке Франкенбургера, который базируется на гипотезе Вильштеттера и Габера, заключается ошибка, на которую указали Семенов и Зельдович. В реакциях с крайне слабым положительным энергетическим балансом не могут возникать радикалы в большем количестве, чем они представлены в самом субстрате без прибавления фермента, так как последний лишь катализирует, т. е. ускоряет, реакцию.

Появление ультрафиолетовых фотонов объяснимо с этой точки зрения лишь не регистрируемыми обычными методами побочными

¹ Интенсивность излучения обычных митогенетических источников (живых систем, химических реакций) оценивается согласно всеми авторами, работавшими со счетчиками фотонов [Раевский, Франк и Родионов, Барт (Barth), Оцюбер. Речь идет о нескольких тысячах фотонов на 1 см² в секунду. Эти определения не претендуют, однако, на абсолютную точность и указывают лишь порядок величины.

реакциями, которые требуют значительной затраты энергии, не предвиденной в обычных схемах ферментативных процессов.

Более внимательное изучение процессов в дальнейшем убедило нас в правильности этой точки зрения.

Свободные радикалы и как следствие их рекомбинации—излучение получаются лишь в тех случаях, когда в ферментативные процессы вовлекается или видимый свет, или атмосферный кислород, или оба фактора.

Так как ни один из этих двух факторов не вызывает сам по себе, т. е. без одновременного участия фермента, появления радикалов (и излучения), и в то же время ферментативные процессы без участия одного из этих факторов также не приводят к интересующим нас результатам, т. е. не сопровождаются излучением, то приходится остановиться на следующем представлении.

Если обозначить субстрат ферментативного воздействия символом AB , то можно принять, что фермент без участия света (и кислорода вызывает какое-то его изменение, которое мы обозначим как AB' , или расщепление на $A + B$. AB' или A и B могут уже явиться подходящим для воздействия видимого света (или кислорода) субстратом, расщепляющимся при известных обстоятельствах до радикалов.

Неясным в этой схеме остается одно обстоятельство: почему при явном избытке и света, и кислорода эти процессы являются крайне редкими событиями?

Мы предпочли бы пока воздержаться от ответа на этот вопрос.

Мы начнем с более простого и легкого экспериментального подтверждения второго положения Франкенбургера, утверждающего, что энергия рекомбинации радикалов поглощается присутствующими в растворах способными к флюоресценции телами.

Если оно правильно, то следует ожидать, что при прибавлении к системе фермент + субстрат какого-нибудь третьего тела, забедомо не принимающего участия в данной реакции, последнее поглотит в ряде случаев энергию рекомбинации радикалов и может отдать ее в виде флюоресценции с характерным для него спектром.

Опыт в полной мере подтверждает этот вывод, и мы постараемся показать на ряде примеров всеобщность этого принципа при самых различных случаях митогенетического излучения.

В качестве ферментативной системы мы берем обычно подвергнутый предварительно митогенетическому облучению раствор аминокислоты (обычно гликокола), который в течение многих часов после облучения испускает крайне простой спектр излучения, состоящий из двух полос 2 290—2 300 и 3 040—3 080 Å. На основании ряда данных, на которых мы не будем здесь останавливаться (см. главу 2), можно с достаточной степенью достоверности утверждать, что это излучение является результатом окислительного дезаминирования аминокислоты с образованием NH_3 .

Мы покажем также в дальнейшем, что если реакция протекает, как у нас, на свету, то как побочные продукты при ней возникают в незначительных количествах радикалы OH , карбонильная груп-

па = СО и О. Теплота рекомбинации карбонильной группы и О, т. е. образование СО₂, равная 167 ккал, более чем достаточна для возбуждения самой коротковолновой полосы митогенетического спектра 1900 Å (150 ккал).

Если к облученной аминокислоте прибавить, например, глюкозу, то в эмиссионном спектре, наряду с уже упомянутыми полосами, появляется ряд новых полос, а именно 1900—1905, 1915—1920, 1960—1970, 2160—2170 Å. Весь набор полос идентичен спектру излучения, возникающему при ферментативном расщеплении глюкозы.

Из этого факта мы вправе сделать два вывода:

- 1) полученный нами в данном случае спектр есть действительно спектр флюоресценции глюкозы;
- 2) возникающее при химическом (например, ферментативном) расщеплении глюкозы излучение соответствует также флюоресценции неразложившего субстрата, а не каких-либо продуктов реакции.

Мы можем проанализировать выбранный нами пример и несколько дальше.

Вместо излучающего гликокола мы можем использовать и иную ферментативную систему, например, мочевины + специфический для нее фермент — уреазу. Предварительное испытание смеси глюкозы + мочевины и глюкозы + уреазы обнаруживает полное отсутствие излучения. Но прибавление глюкозы к системе уреазы + мочевины дает уже знакомый нам эмиссионный спектр глюкозы.

Описанное нами явление, т. е. флюоресценция за счет выделяющейся при химической реакции энергии, было обозначено нами, по предложению А. Н. Филиппова, как «сенсibilизированная» флюоресценция.

Как показали дальнейшие исследования, в ней можно, повидному, видеть общий принцип возникновения ультрафиолетовой люминесценции при химических реакциях, поэтому мы остановимся на этом вопросе несколько подробнее.

Прежде всего необходимо, конечно, перекинуть мостик между описываемым нами явлением и флюоресценцией в обычном смысле слова. Это удастся лишь в тех случаях, где возможно испытание сенсibilизированной флюоресценции на телах, которые флюоресцируют и при облучении ультрафиолетом.

Подходящим объектом оказался бензол, спектр флюоресценции которого хорошо известен по работам Прингсгейма.

Мы приведем здесь ряд данных из исследования Е. А. Гордон.

В качестве ферментативной системы здесь был использован предварительно облученный гликокол. После высушивания при 37° он, будучи снова растворен, сохраняет способность к излучению приблизительно в течение первых суток.

Высушенный излучающий гликокол растворяется примерно в отношении 1:100 в бензольной воде, т. е. в насыщенном водном растворе бензола, в котором бензол находится, конечно, в ничтож-

ной концентрации, и раствор подвергается спектральному митогенетическому анализу.

О степени совпадения полученного в результате приблизительно по 90 отдельных опытов спектра с данными Прингсгейма можно

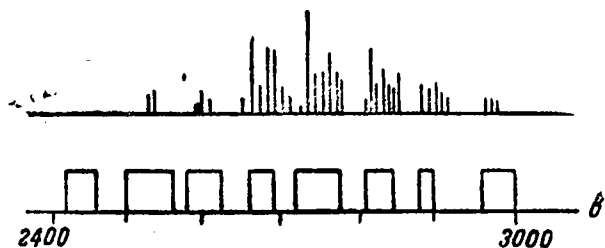


Рис. 1.

a — спектр флуоресценции паров бензола (по Прингсгейму); *b* — спектр флуоресценции водного раствора бензола при растворении в нем предварительно облученного, потом высушенного глинозла (по Гордон).

судить по прилагаемой диаграмме (рис. 1). Мы приводим, кроме того, выдержку из числовых данных Гордон.

Линии по Прингсгейму	Выделенные монохроматором области (Гордон)	Средние эффекты индукции	Число опытов
—	2 620—2 645	8%	4
—	2 645—2 660	3%	2
2667	2 660—2 685	45%	6
—	2 685—2 720	4%	2
2739	2 730—2 760	42%	8

Таким образом, мы видим, что по крайней мере на одном примере удалось установить полную эквивалентность обычной и «сенситивизированной» флуоресценции, причем выясняется чрезвычайно чувствительность митогенетического метода. Это дает, как нам кажется, некоторое право рассматривать с той же точки зрения и те основные для нас случаи флуоресценции, где не существуют и, быть может, не могут существовать спектры-эталонны для сопоставления, как оно было проведено на бензоле.

Описанным нами методом была обследована флуоресценция целого ряда химических соединений и нескольких элементарных ионов.

Прежде всего необходимо подчеркнуть, что далеко не все тела являются флуоресцентами. В частности, представляющие для

нас особый биологический интерес — высокомолекулярные соединения — гликоген, белки, нуклеиновая кислота — в условиях опыта не флюоресцируют.

Мы остановимся на нуклеиновой кислоте.

При прибавлении к раствору нуклеиновой кислоты адекватного для нее фермента (фосфатаза) от крупного органического ядра отщепляется входящий с ним в эфирную связь радикал фосфорной кислоты — PO_4 . Митогенетический спектр излучения, сопровождающего этот процесс, изучен нами достаточно подробно.

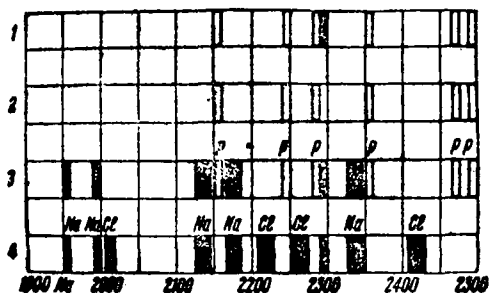


Рис. 2. Спектры сенсibilизированной флюоресценции.

Полоса 2 290 — 2 300 Å (зачернена), излучение ферментативной системы (облученный предварительно гликокол). 1 — спектр сенсibilизированной флюоресценции при прибавлении к облученному гликоколу радикала PO_4 (раствора ортофосфорной кислоты); 2 — спектр при ферментативном расщеплении нуклеиновой кислоты или лецитина; 3 — спектр флюоресценции при прибавлении фосфорнокислого натрия; 4 — спектр флюоресценции при прибавлении хлористого натрия.

Совершенно идентичный спектр получается и при расщеплении другого сложного органического вещества — лецитина, также заключающего радикал фосфата в эфирной связи. Это уже показывает, что излучение как-то связано с отщеплением фосфата, и естественнее всего было предположить, что флюоресцентом в этом случае является именно последний.

Опыт вполне подтвердил это предположение: при прибавлении к излучающему раствору гликокола следов фосфорнокислого натрия в спектре появляется целый набор новых полос, среди которых представлены все 6 полос спектра действия фосфатазы и наряду с этим ряд полос, которые можно предположительно приписать иону натрия (рис. 2).

Это последнее предположение находит подтверждение в следующем опыте: вместо фосфата к гликоколу прибавляется в небольших количествах хлористый натрий. В возникающем при этом спектре флюоресценции обнаруживаются все те полосы, которые в предыдущем опыте приписывались нами иону натрия, и ряд новых, которые мы на основании аналогичного умозаключения предположительно приписываем иону хлора.

Мы видим, таким образом, что наш анализ приводит к обнаружению спектров флюоресценции ряда простых тел.

Наряду с этим удается обнаружить и наличие флюорофорной группы, входящей в состав особенно важных в биологическом отношении тел, так называемых пептидов, т. е. соединений двух или нескольких аминокислот посредством так называемой «пептидной» связи ($-\text{CO}-\text{NH}-$).

При испытании спектров флюоресценции двух дипептидов — глицил-глицина и глицил-тирозина — получается спектр, состоящий из 9 полос, совпадающий со спектральным составом излучения при ферментативном расщеплении полипептидов, тех же дипептидов или белков.

Вместе с тем только что упомянутые дипептиды совпадают по своему составу только в смысле пептидной связи (сам гликокол, входящий в состав обоих, не принадлежит к классу флюоресцентов). Из этого путем исключения мы приходим к выводу, что так называемый «пептидный спектр» есть спектр флюоресценции пептидной группы, сохраняющей при этом связь с остальными группами молекулы пептидов.

Этот вывод находит дальнейшее подтверждение в методе селективного рассеяния.

187-2
Испытуемое вещество (в растворе или в сухом состоянии) облучается достаточно интенсивной (водородная трубка) строго монохроматической полосой, входящей в состав его эмиссионного спектра в случае ферментативного расщепления (или фотодиссоциации) (мы пользовались при этом монохроматором двойного разложения фирмы Лейсса). Селективное излучение субстрата обнаруживалось посредством монохроматора, оптическая ось которого располагалась под прямым углом к пучку, исходящему из первого монохроматора. Поверхность излучающего вещества (в виде порошка или чешуек) располагалась приблизительно под углом в 45° к обеим осям.

Положительный эффект на детектор, расположенный у выходной щели второго монохроматора, получается лишь при выполнении следующих условий:

1. Щель должна быть установлена на участок спектра, соответствующего одной из полос известного из реакции расщепления эмиссионного спектра данного вещества.

2. При выполнении первого условия эффект получается лишь при подсвечивании именно этой длиной волны. Отступление в том или ином направлении примерно на 15 \AA уже не давало эффекта при избранной или несколько более длинной экспозиции.

Конечно, при чрезвычайной чувствительности метода следовало ожидать при значительно более длительной экспозиции появления эффекта и нерезонансного характера, т. е. при подсвечивании любой из митогенетически активных длин волн. Действительно, такое неспецифическое рассеяние обнаруживается, но при удлинении экспозиции примерно в 2—3 раза.

При наблюдении этих условий были изучены спектры селективного рассеяния сухого нативного белка и пептидов различной сложности. Кроме этого, изучался анидид стеариновой кислоты — соединения, у которого общей с белками и пептидами является исключительно пептидная связь — $\text{CO} - \text{NH}$.

Результаты были следующие.

Излучение пептидов содержало полный «пептидный» спектр из 9 полос, вполне совпадающий с эмиссией при ферментативном расщеплении белков или пептидов и при сенсibilизованной флюоресценции последних. Спектр анилида стеариновой кислоты состоял из 7 типичных полос, 2 остальные отсутствовали. Спектр флюоресценции нативного белка оказался наиболее бедным — он состоял лишь из 4 полос¹.

Если мы обратимся теперь к спектрам флюоресценции некоторых простых ионов, то здесь возникают, повидимому, некоторые затруднения в толковании результатов, так как приписываемые нами ионам натрия и хлора полосы

¹ Все эти данные имеют предварительный характер.

в коротковолновой части спектра не обнаружены в их обычных спектрах флюоресценции и некоторые из них вовсе не могут ожидать из теоретических соображений.

Наряду с этим среди списка полос, значащихся, по Фришу, в спектре Na II в более длинноволновой части спектра, 8 полос обнаружены нами в ряде опытов, которые, правда, носят ориентировочный характер.

Вместе с тем Рабинерсон и Владимирская, изучая излучение при нейтрализации смеси крепких растворов NaOH и HCl, получили спектральный состав, содержащий, за исключением одной, все линии, приписываемые нами в области до 2500 Å ионам натрия и хлора.

Мы должны пока воздержаться от окончательного суждения по этому довольно запутанному вопросу.

Мы полагаем, что описанные нами факты в достаточной мере подтверждают обоснованность второго положения Франкенбургера и что мы действительно вправе рассматривать излучение, возникающее при химических реакциях, как флюоресценцию тех или иных представленных в исследуемых смесях веществ совершенно независимо от того, участвуют ли они в данной реакции или нет.

Сами же радикалы, рекомбинация которых доставляет возбуждающую флюоресценцию энергию, остаются при этом как бы в тени, правда, за исключением OH, эмиссионная полоса которого обнаруживается во многих случаях ферментативного расщепления различных органических тел.

Гораздо более сложна и трудна вторая, вытекающая из основной гипотезы задача — обнаружение радикалов в реагирующих системах.

Мы указали уже вскользь на необходимость специальных условий течения разбираемых нами химических реакций, при которых лишь возможно появление свободных радикалов. Этих условий два — видимый свет и атмосферный кислород.

Роль этих двух факторов в разных случаях различна: при некоторых реакциях излучение сохраняется и в полной темноте, но при непременно участии кислорода, другие, наоборот, не сопровождаются излучением при полном затемнении, но протекают в бескислородной среде.

Для нескольких сравнительно простых реакций удалось вывести из расчета их энергетического баланса не только необходимость того или иного из этих факторов, но и сделать некоторые специальные выводы, например, касающиеся предельной в длинноволновую сторону длины активного участка видимого спектра, зависимости интенсивности излучения от интенсивности подсвечивания, и подтвердить правильность этих выводов на опыте.

Прежде всего необходимо остановиться на методике обнаружения свободных радикалов.

Из интересующих нас радикалов эмиссионный спектр был описан лишь для гидроксила в пламени (Бонгеффер, Кондратьев).

Обнаружение эмиссионных спектров некоторых других радикалов основано на следующих соображениях.

Если на основании химических данных или энергетических подсчетов известны продукты фотодиссоциации данного тела, то для митогенетического

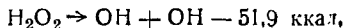
анализа возникает, вследствие его большой чувствительности, следующие возможности:

1. Энергия фотона облучения достаточно велика для расщепления данного соединения и для возбуждения одного из возникающих при этом радикалов.
2. Энергия фотона нехватает для этих двух актов, другими словами, радикалы освобождаются в невозбужденном виде.

Во втором случае, при достаточной интенсивности подсвечивания, возможны случаи, где за время своего существования свободный радикал поглощает второй фотон.

Простой расчет показывает, что среди интересующих нас радикалов один лишь OH может при известных комбинациях удовлетворить первому условию.

Если исходить из H_2O_2 , энергия диссоциации которого равна 51,9 ккал



а энергия возбуждения $OH \approx 93$ ккал, то при подсвечивании полосой ультрафиолета $\approx 1900 \text{ \AA}$ (150 ккал) поглощение одного фотона может привести к появлению возбужденного OH ($51,9 + 93 = 144,9$ ккал).

Полоса 1900 \AA представлена в спектрах флуоресценции глюкозы, полоса $1940 \text{ \AA} = 146,9$ ккал содержится в спектре флуоресценции мочевины. Можно поэтому ожидать при облучении H_2O_2 одним из этих двух источников появления полосы гидроксила.

Опыт вполне подтверждает эти выводы.

В противоположность радикалу OH, эмиссионный спектр которого находится в области длинноволнового ультрафиолета, спектр сплошного поглощения молекулы ацетона (по которому мы можем ориентироваться) смещен в коротковолновую сторону. Длинноволновая граница области сплошного поглощения находится у 2060 \AA , поэтому для фотохимического выделения =CO-группы из очищенного ацетона необходим был коротковолновый ультрафиолет. Ожидаемые эмиссионные полосы могли быть приписаны только =CO, так как другой продукт диссоциации — радикал CH_3 не поглощает в кварцевой области. Очевидно было, однако, что обнаружение полос =CO будет возможно, в противоположность OH, только при последующем возбуждении вторым фотоном, уже отщепленного первым фотоном радикала. Облучение митогенетическими источниками не могло поэтому привести к положительным результатам. Это было экспериментально показано. При облучении же мощным источником излучения, доходящим в коротковолновую сторону до 2020 \AA , возникала полоса $2020-2040 \text{ \AA}$.

Нужно было показать, что излучение этой линии подчиняется квадратическому закону и принципу резонанса. Результаты соответствующих опытов очень ясны и однозначны. Интенсивность постоянного источника излучения — водородной трубки — ослаблялась вдвое путем включения сетки, определялись пороги экспозиций при полной и уменьшенной интенсивности. Выяснилось, что получающаяся в этом случае зависимость подчиняется не закону $J \cdot t = \text{const}$, а закону $Jt^2 = \text{const}$.

	Полная интенсивность		Половина интенсивности	
Время экспозиции . . .	1'	45"	4'	3' 30"
Индукционный эффект	60%	5%	41%	1%

Согласованность с принципом резонанса видна из следующей таблицы.

Испытание полосы $2020-2040 \text{ \AA}$ при облучении ацетона

Длина волны источника облучения	$2020-2040 \text{ \AA}$	$1980-2000 \text{ \AA}$	$2280-2100 \text{ \AA}$
Индукционный эффект	47%	-5%	6%

С этими данными вполне совпадают данные Гордон, полученные при подсвечивании водного раствора аммиака. Однако здесь речь идет лишь о довольно резком максимуме. Размытая, значительно более слабая флуоресценция наблюдается довольно далеко в коротковолновую область, со вторым, значительно более слабым максимумом у $2375-2350 \text{ \AA}$.

При применении достаточно мощного облучения очень большими фотонами ($1\ 900\ \text{Å} - 150$ ккал) в данном случае нарушается принцип резонанса, т. е. раствор аммиака испускает характерную для него полосу $2\ 530\ \text{Å}$. При этом исследование порогов времени показало наличие квадратической зависимости. Опытами Гордон порог эффекта при полной интенсивности подсвечивания был установлен в 5 минут, при ослаблении интенсивности в половину — в 20 минут.

Удается показать и иным способом, что речь идет о двухактном процессе, т. е. сначала об отщеплении радикала, а потом об его возбуждении.

Это вытекает из следующих опытов того же автора.

Облучение NH_3 областью спектра, лежащей у границы сплошного поглощения ($2\ 260\ \text{Å}$), а тем более полосой $2\ 530\ \text{Å}$, для которой аммиак прозрачен, не вызывает само по себе флюоресценции. Но одновременное подсвечивание этими обеими полосами дает яркий положительный эффект.

В то же время комбинация из резонансной полосы $2\ 530\ \text{Å}$ и полосы $2\ 350\ \text{Å}$, лежащей уже вне области сплошного поглощения для NH_3 , не дает, как и следовало ожидать, никаких результатов.

Мы располагаем, таким образом, спектрами-эталоном трех наиболее существенных для анализа ферментативных реакций радикалов. Атомные Н и О в кварцевой области ультрафиолета флюоресценции не обнаруживают.

Этим самым открывается возможность обнаружения радикалов при ферментативных реакциях. Речь будет идти при этом о карбонильной группе и об амино- или иминогруппе, которые отсутствуют в эмиссионном спектре соответственных реакций при обычных условиях, но выступают при резонансном подсвечивании реактивной смеси. Полоса гидроксила входит, наоборот, в состав обычного эмиссионного спектра данных реакций.

Мы приведем в виде примера протокол одного из опытов с системой глюкоза + зимаса (из дрожжевой вытяжки).

Как уже выше указывалось, спектр излучения при данной реакции, т. е. спектр флюоресценции глюкозы, состоит из четырех полос: $1\ 900 - 1\ 920$, $1\ 940 - 1\ 950$, $1\ 960 - 1\ 970$ и $2\ 160 - 2\ 170\ \text{Å}$ и, кроме того, из полосы $3\ 060 - 3\ 100\ \text{Å}$ (ОН).

Раствор глюкозы (5%) подсвечивают полосой $2\ 030 - 2\ 040\ \text{Å}$ (от водородной трубки), причем констатируют отсутствие эффекта. После этого к такому же раствору глюкозы прибавляют фермент (в отношении 1:100) и повторяют подсвечивание. Результат — яркий положительный эффект. Наконец, фермент прибавляют в таком же отношении к воде вместо глюкозы. При подсвечивании — отсутствие эффекта.

Облучение полосой $2\ 030 - 2\ 040\ \text{Å}$	Испытание полосы $2\ 030 - 2\ 040\ \text{Å}$
а) 5% раствор глюкозы без фермента	-5%
б) 5% раствор глюкозы + фермент (1:100)	+67%
в) Вода + фермент (1:100)	+3%

Аналогичным образом карбонильная группа была обнаружена в «пептидном» и «уреазном» спектрах, где была получена также и полоса 2530 \AA (NH_2 или NH).

Наличие радикалов при ферментативных реакциях можно, как нам кажется, считать на основании этих данных доказанным, и вместе с тем из сопоставлений данных «а» и «б» предшествующей таблицы вытекает, что они появляются именно в результате ферментативной реакции.

Нам остается показать, что этот факт не встречает затруднений для толкования, т. е. что энергетический баланс вполне удовлетворен, если мы примем во внимание участие в разбираемых реакциях видимого света и атмосферного кислорода. При этом следует отметить, что различные реакции ведут себя в этом отношении неодинаково. В некоторых излучение исчезает в темноте, несмотря на присутствие кислорода, в одной реакции, наоборот, необходим только кислород и излучение наблюдается и при полном затемнении.

Для трех в химическом отношении наиболее прозрачных реакций эти различия находят вполне удовлетворительное объяснение в их энергетическом балансе при некоторых правдоподобных и отчасти экспериментально подтвержденных допущениях.

Мы имеем в виду следующие системы: 1) глюкоза + зимаза; 2) мочевины + уреазы; 3) простейший дипептид — глицил-глицин + эрепсин.

Первая из них сохраняет излучение при полном затемнении, но в присутствии кислорода, остальные две требуют для излучения и света, и кислорода. Первая реакция при анаэробных условиях, но на свету сохраняет лишь наиболее длинноволновую, гидроксильную полосу спектра.

При попытке вывести энергетический баланс разбираемых реакций мы делаем следующие допущения.

Молекула фермента воздействует на молекулу субстрата совместно с двумя фотонами видимого света, величину которых можно довольно точно установить путем определения длинноволновой границы активного спектрально разложенного света.

В эту реакцию вовлекается атмосферный кислород и вода.

Так как отдельные этапы, т. е. действительный ход разложения органических веществ ферментативным путем, пока не установлен во всех деталях и многие этапы остаются сомнительными, мы прибегаем в наших расчетах к следующей фикции.

Производится общий расчет расходного баланса в предположении, что как молекула субстрата, так и O_2 и H_2O разлагаются на атомы (или сравнительно простые радикалы, вроде NH_2 , $=\text{CO}$, OH и т. д.).

После этого вычисляется энергия, освобождающаяся при соединении радикалов в регистрируемые химически продукты расщепления. Наряду с этим предположительно рекомбинируются и другие соединения, не обнаруживаемые химическим анализом в данных реакциях ввиду ничтожности их концентраций. При этом

остаются неиспользованными некоторые категории атомов (радикалов). Полученный из рекомбинаций последнего рода общий приходный баланс вычитается из общего расходного. Получаемый при этом дефицит энергии покрывается предположительно добавочной энергией поглощаемых при процессе фотонов видимого света.

Все эти расчеты мотивированы тем, что они приводят к ряду выводов, доступных проверке на опыте.

Мы начнем с анализа наиболее простого случая — расщепления мочевины уреазой. Продуктами гидролиза являются NH_3 и CO_2 , реакция слабо экзотермична (около 2 ккал).

Спектр излучения доходит при этой реакции до 1940 Å (146,4 ккал) в коротковолновую сторону. Необходимо поэтому предположить появление по крайней мере двух видов свободных радикалов, рекомбинация которых может дать соответствующую энергию, в данном случае = CO и O (167 ккал). Расходный баланс при расщеплении мочевины, воды и O₂ следующий:

1) Отщепление двух NH_2	— 120 ккал
2) $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H} + \text{H} + \text{O}$	— 220 ккал
3) $\text{O}_2 \rightarrow \text{O} + \text{O}$	— 118 ккал
Всего	— 58 ккал

Предполагаются следующие побочные процессы рекомбинации:

1) $\text{NH}_2 + \text{NH}_2 \rightarrow \text{N}_2\text{H}_4$ (гидразин)	+ 69 ккал
2) $2(\text{H} + \text{O}) \rightarrow 2(\text{OH})$	+ 220 ккал
3) $\text{OH} + \text{OH} \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	+ 51 ккал
Всего	+ 340 ккал

Неиспользованными остаются радикалы =CO и O.

Дефицит, равный 118 ккал, предположительно покрывается двумя фотонами видимого света, около 60 ккал каждый, соответственно 4730 Å = зелено-голубому. В этих расчетах содержится возможность двух экспериментальных подтверждений: 1) обнаружение путем резонансного подсвечивания радикала =CO; 2) неэффективность зеленого или более длинноволнового участка видимого спектра.

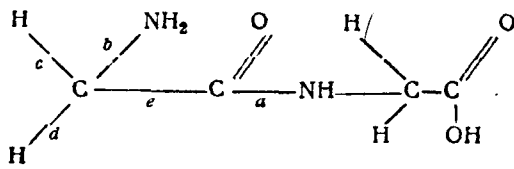
Оба вывода находят полное подтверждение на опыте.

Мы приводим в качестве примера один протокол.

Система уреазы + мочевина

Длина волны монохроматического подсвечивания	4 250—4 300 Å фиолетовый	4 700 Å голубо- вато-зе- леный	5 000 Å зеленый
Эффект излучения	70%	34%	4%

Мы разберем аналогичным образом реакцию расщепления дипептида (глицил-глицина) эрепсином:



Предположим, что произошел разрыв связей, обозначенных буквами *a — e*.

Энергия диссоциации выражается следующими величинами:

a)	— 60 ккал
b)	— 60 ккал
c)	— 93 ккал
d)	— 93 ккал
e)	— 71 ккал
Кроме того, $H_2O \rightarrow H + OH$	— 110 ккал
$O_2 \rightarrow O + O$	— 118 ккал
Общая сумма затраты энергии	— 605 ккал

Предположительные рекомбинации:

1. Присоединение H к NH правой пол винны расщепленного дипептида, т. е. восстановление молекулы гликокола + 87 ккал
2. Свертывание двух валентностей свободного C \approx 120 ккал
3. Соединение = C (из 2) + O \rightarrow CO + 167 ккал
4. $H + H \rightarrow H_2$ + 108 ккал

Сумма . . . + 482 ккал

Дефицит в 123 ккал покрывается двумя фотонами не меньше 52 ккал — 4 600 Å (сине-зеленый). Свободные радикалы: $NH_2=CO$, O, OH.

Экспериментально необходимо подтвердить:

1. Эффективность облучения (длиной волны до 4 600 Å, в противоположность системе уреазы + мочевины, где эффективность обрывается в более длинноволновой области.
2. Квадратическую зависимость интенсивности излучения от силы света:

Раствор белка + желудочный сок при мопрохроматическом облучении зеленым светом (5 000 Å)	Индукционный эффект 63%
То же, облучение красным светом (6 000 Å)	Индукционный эффект 6%

Мы видим, что в данном случае совпадение между рассчитанной и обнаруженной длинами волн менее удовлетворительно¹.

Такая же система облучается зеленым светом (5 000 Å) при полной интенсивности (источник — кинолампа) и при уменьшенной на 5% (отношение, как 3 : 2).

¹ Расхождение между расчетом и опытным результатом равно приблизительно 9 ккал, что, повидному, объясняется приблизительным характером определения теплотности некоторых связей.

Время экспозиции в минутах	Эффект	
	полная интенсивность в %	сниженная интенсивность в %
3	+ 5	—
4	— 7	—
5	+ 21	—
6	+ 33	—
8	+ 42	—
10	—	0
12	—	+ 23
15	—	+ 65

Порог при полной интенсивности лежит между 4 и 5 минутами, при ослабленной в 1½ раза интенсивности — между 10 и 12 минутами, т. е. отношение интенсивностей излучения в обоих случаях приблизительно равно 2,5, т. е. порядка $(3/2)^2$.

3. Обнаружение выведенных теоретически радикалов.

Область, соответствующая, по данным Кондратьева, радикалу ОН, входит в состав эмиссионного спектра без подсвечивания резонансной полосой.

Что касается группы NH_2 (или NH) и карбонильной группы, то для их обнаружения необходимо резонансное подсвечивание достаточно интенсивным источником.

Мы приводим в виде примера по протоколу для обеих групп.

I. Определение радикала NH (или NH_2) (подсвечивание полосой 2 520—2 540 Å).

Раствор белка

а) без прибавления желудочного сока в %	10
б) с желудочным соком в отношении 10:1	62
в) то же без подсвечивания	2
г) повторение („б“)	55
д) то же, но подсвечивание 2 490—2 510 Å	5
е) то же, но подсвечивание 2 550—2 570 Å	—5

II. Определение группы карбонила = CO.

Раствор белка с желудочным соком (испытание полосы 2 020—2 040 Å (в %):

а) без подсвечивания	0
б) подсвечивание полосой 2 020—2 040 Å	50
в) то же 2 000—2 010 Å	0
г) то же 2 050—2 060 Å	3

Третий пример касается процесса гликолиза.

В то время как в первых двух разобранных нами случаях существенную роль при возникновении радикалов играют, по видимому,

фотоны видимого света, излучение при гликолизе возникает и при полном затемнении, однако при непрерывном участии кислорода.

Механизм вмешательства этих обоих внешних энергетических факторов, повидимому, в значительной степени различен.

Нам приходится удовольствоваться в настоящее время следующими общими представлениями.

Процессы ферментативного распада, повидимому, всегда много-ступенчаты, причем вполне вероятно, что промежуточные продукты с очень коротким временем существования появляются при очень незначительном освобождении энергии.

Можно предположить, что те или иные промежуточные продукты поглощают два фотона видимого света и, отклоняясь (этим самым от нормального пути постепенного дальнейшего распада (или дисмутации), распадаются на свободные радикалы или отщепляют тот или иной из них.

Появление свободных радикалов в отсутствие света, сопровождающее гликолиз, возможно приписать лишь существенно иному механизму.

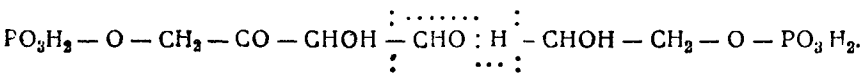
Мы будем исходить при этом из следующего допущения.

При распаде гексоз на две триозы энергетически возможны, а поэтому в виде редких событий и реализуются, процессы окисления, причем остаются свободные радикалы = CO и O.

Мы приведем две такие схемы с соответственными схематическими расчетами, дающими, конечно, лишь очень приближенные величины.

Схема Эмбдена распада кетозы
(фруктозы)

Распад, согласно Эмбдену, по пунктиру:



Расщепление триозы, содержащей кетогруппу, можно представить себе по следующей схеме с присоединением O₂ и H₂O и с освобождением карбонильной группы (=CO) и O (при расщеплении O₂).

- I. Разрыв двух связей C — C — 142 ккал
- II. O₂ → O + O — 118 ккал
- III. — CH₂O — PO₃H₂ + H + H₂O → CH₃OH + PO₄H₃ . Экзотермическая реакция > 93
- IV. = C \dot{H} ON + O → CNOON + 167 ккал

Таким образом, общий энергетический баланс приблизительно нулевой и остаются свободными два радикала =CO и O.

Аналогичный результат получается и при схематическом построении окисления триоз, получающихся при распаде глюкозы (в виде так называемого эфира Кери, глюкозо-1-монофосфорного эфира). Энергетический баланс при этом слабо отрицательный (около 10 ккал). Приходится поэтому допустить, что постулируе-

мые процессы совершаются в молекулах (с энергетическим запасом, превышающим средний уровень на эту величину, что, конечно, вполне возможно при комнатной температуре и при ничтожных выходах свободных радикалов.

Мы ограничивались до настоящего времени вычислением энергетического баланса лишь для трех основных ферментативных реакций. В дальнейшем будет, конечно, необходимо произвести аналогичные расчеты и экспериментальные испытания и для ряда других, в том числе неорганических, систем.

Основное значение видимого света при возникновении митогенетического излучения иллюстрируется с особенной яркостью недавно открытым нами явлением, представляющим одинаковый интерес и в физическом, и в биологическом смысле.

Хотя многие стороны нового феномена еще недостаточно выяснены, тем не менее его эмпирические основы могут считаться прочно установленными. Речь идет о сложении (синтезе) энергии двух фотонов видимого света и появлении при этом фотона ультрафиолета. Экспериментальный путь при этом следующий.

Сильно разбавленная, прозрачная водная вытяжка из печени (или из раковой опухоли) освещается достаточно ярким видимым светом, сфокусированным у одного конца заполненной раствором кварцевой трубки около 10 см длины. Противоположный, хорошо заэкранированный от яркого источника видимого света конец трубки расположен перед коллиматором кварцевого спектрографа, перед выходной щелью которого устанавливаются обычным способом дрожжевые детекторы. В дальнейших опытах освещение производится уже не белым, а монохроматическим светом различных длин волн.

Мы приводим выдержку из экспериментальных данных.

Излучение облученной жидкости

Испытание различных спектральных областей

Источник облучения	2120—2180 Å	2180—2200 Å	2200 Å до длинноволнового ультрафиолета
Яркий белый свет . . .	— 3%	60%	6%
Сине-зеленый свет (4 800 Å)	— 1%	52%	—

При облучении зеленым светом (5 000 Å) испытание дает нулевой эффект.

Само явление синтеза ультрафиолета, подтвержденное многочисленными разнообразными опытами, не подлежит, таким образом, сомнению. Однако энергетические соотношения вызывают не нашедшие пока удовлетворительного объяснения трудности.

Возбуждение молекулы исследуемого вещества, обозначаемого нами провизорно как «синтезин», есть, конечно, двухактный процесс, причем нет достаточных оснований для предположения, что второй, поглощенный фотон, застигнувший молекулу на определен-

ном уровне возбуждения, его как бы удвоит, т. е. поднимет молекулу на окончательный уровень, соответствующий фотону с двойным по сравнению с поглощенным запасом энергии.

При расчете энергетических соотношений мы получаем следующие результаты:

- 1) фотон 4800 \AA соответствует 60 ккал;
- 2) сумма энергий двух фотонов = 120 ккал соответствует ультрафиолетовому фотону 2360 \AA

Однако мы убедились, что в действительности появляется более коротковолновый (2200 \AA) фотон, энергия которого соответствует 128 ккал, равным сумме энергий двух фотонов по 64 ккал, что соответствует 4440 \AA . Расхождение (рассчитанной длины волны с успешно примененными (4800 \AA) лежит, несомненно, вне пределов возможной ошибки в калибровке монохроматора и должно остаться пока невыясненным.

Возникновение ультрафиолетовых фотонов на месте облучения видимым светом является стартом цепной реакции, проявляющейся в виде ультрафиолетового вторичного излучения, распространяющегося на много сантиметров по трубке. Синтезин принадлежит, таким образом, к классу флюоресцентоов. Особенностью наблюдаемой цепной реакции по сравнению с другими, известными нам, является крайне слабая концентрация синтезина.

Относительно его физико-химических свойств можно лишь отметить термостабильность и легкую диффузию через коллоидную пленку. Мы имеем, таким образом, несомненно, дело с химически не особенно сложно построенной молекулой.

В. МИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ СПЕКТРЫ

Эмиссионные спектры жидкостей и растворов носят обычно характер широких расплывчатых полос, что находится в полном соответствии с теоретическими представлениями о взаимодействии между молекулами растворенных веществ и растворителя (воды).

Митогенетические спектры представляют поэтому неожиданное для обычных физических представлений явление, так как сравнительная узость и резкая очерченность отдельных полос плохо согласуются с известными до сих пор и теоретически ожидаемыми данными, касающимися эмиссии жидких сред.

При дисперсии кварцевого спектрографа, равной $2,5 \text{ м\AA}/10 \text{ \AA}$ (в области 1900 \AA , средняя модель Фюсса), эмиссионные спектры различных жидких систем, в которых протекают реакции, обнаруживают полосы в 5 \AA ширины, резко очерченные при применяемой нами методике. Ввиду принципиальной важности этого факта мы должны на нем остановиться несколько подробнее.

При узкой щели коллиматора ($0,2 \text{ мм}$) сдвиг выходной щели монохроматора, соответствующей 5 \AA на несколько ангстрем вправо или влево от области ярко положительного эффекта, сводит его к нулю при соблюдении одной и той же или несколько продленной экспозиции¹.

¹ Эффект по обе стороны от положительного наблюдается, как правило, лишь при удвоении времени экспозиции.

Мы приведем в виде примера полную серию соответственных опытов.

Спектральное разложение излучения системы глюкоза—зимаза

γ (по Деккер)

Области спектра	Эффект индукции (в %)	
1 890 — 1 900 Å	1 900 — 1 905 Å	1 905 — 1 915 Å
—	30	5
— 8	32	— 7
— 2	40	5
11	61	— 4
8	35	0
— 3	19	5
— 2	40	— 2
3	45	9
1	50	9

В выбранном нами примере сравнительная резкость полос подчеркивается еще тем обстоятельством, что уже в области 1 915—1 920 Å, т. е. на расстоянии всего 10 Å от соседнего, лежит такой же выраженный и резко очерченный максимум, т. е. в некоторых случаях полуширина спектральных полос равна 10 Å.

В более длинноволновых областях, с меньшей дисперсией, удается все же с достаточной определенностью выделять полосы в 10 Å ширины.

Сама возможность получения спектров представляет некоторые трудности для понимания, если исходить из ничтожной интенсивности подвергающегося спектральному разложению излучения.

Исходя из приблизительных расчетов потерь от отражения, поглощения кварцевой оптикой и разложения на ряд полос, приходится принять, что в большинстве случаев на детектор, установленный против полосы в 5 Å, приходится за все время экспозиции несколько десятков фотонов. Мы можем поэтому сравнить чувствительность дрожжевых клеток к ультрафиолету с чувствительностью сетчатки к видимому свету¹.

Дальнейшие исследования показывают, что при применении обычных приемов спектрального анализа мы стоим во всяком случае близко к пределу.

Если при прочих равных условиях сузить щель монохроматора с 5 до 3 Å, то результаты утрачивают свое постоянство и вполне достоверные положительные эффекты чередуются без всякой правильности с нулевыми результатами.

Области спектра	Эффект индукции (в %) (по Деккер)
1 899,5—1 902,5 Å	1, —3, —8, —7, 35, 23, 0, 39, —3, 26
1 902—1 905 Å	31, 1, 8, 36, 0, —5, 35, 21, —2, 1, 14

¹ По данным Вавилова, пороговое световое ощущение может быть уже вызвано 60 фотонами. Новейшие данные Гехта (Hecht) снижают порог до 5—10 фотонов.

Это «мерцание» излучения можно объяснить только чисто статистическим распределением немногочисленных, приходящихся на выделенный участок фотонов. В некоторых случаях число их за все время экспозиции оказывается недостаточным для эффекта и

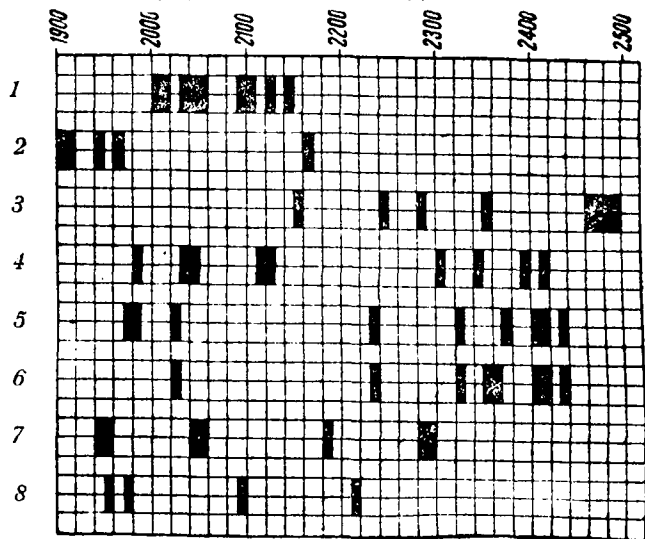


Рис. 3. Спектры-эталон ферментативных реакций.

1 — расщепление креатинфосфата (по Браунштейну и Хейфелю); 2 — спектр «гликолиза», т. е. флуоресценция глюкозы; 3 — спектр, сопровождающий действие фосфатазы на нуклеиновую кислоту и лепитин (спектр флуоресценции PO_4); 4 — так называемый «пептидный» спектр — флуоресценция пептидной связи; 5 — спектр ферментативного расщепления мальтозы; 6 — то же сахарозы; 7 — спектр расщепления мочевины; 8 — спектр липолиза.

тем самым указывает на то, что мы при обычных условиях опыта близки к пределу.

Так как наши основные спектры были в свое время получены от ферментативных реакций и с самого начала было несомненным, что излучение связано с самой реакцией, то соответственные спектры получили, к сожалению, не совсем подходящее обозначение — «гликолитический, фосфатолитический» и т. д. (рис. 3). В действительности же излучение является во всех случаях, как мы уже видели, сенсibilизированной флуоресценцией одного или нескольких тел, находящихся в растворе в данной системе, причем в некоторых случаях, как, например, при так называемом гликолизе, флуоресцентом является неразложенный субстрат, т. е. сама молекула глюкозы, при расщеплении белков — флуорофорной является пептидная группа, и лишь в том случае, если она входит в состав продуктов расщепления белковой молекулы, т. е. сравнительно простых пептидов.

Сравнительно строгая очерченность (большинства) полюс митогенетических спектров позволяет установить длину волны их средней части с довольно большой степенью точности, порядка 2—3 Å. Это дало возможность установить сдвиг полюс обычных

ферментативных спектров на 5—10 Å в длинноволновую сторону в тканевых элементах по сравнению со спектрами того же происхождения в гомогенных системах¹.

Этот иррегулярно важный факт будет изучен более детально в дальнейшем. Для его объяснения мы исходили из предположения, что при расположении обладающих большим диполь-моментом молекул в непосредственной близости друг к другу (как это можно предположить для организованных систем) они взаимно деформируются.

Это предположение возбудило мысль об упрощенно грубой модели, а именно о помещении излучающих растворов в электрические поля. При этом можно было ожидать лишь так называемого пристеночного эффекта, другими словами, переориентировки под влиянием поля уже ориентированного пристеночного молекулярного слоя. Каждая переориентировка молекул с постоянным диполь-моментом должна, конечно, при этих условиях привести к его изменению. Опыты с различными органическими телами, особенно с предварительно облученными аминокислотами, дали очень заметный сдвиг типичной для их излучения полосы 2 290—2 300 Å.

С. МИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СЕЛЕКТИВНОГО РАССЕЯНИЯ

Наряду с возможностью обнаружения некоторых свободных радикалов митогенетический анализ применим и в более общей форме для отождествления отдельных «флюорофорных» групп, входящих в состав сложных органических молекул. Речь идет при этом о селективном рассеянии испытуемым веществом некоторых полос (областей) непрерывного ультрафиолетового спектра, накладывающимся на общее, неселективное Рэлеевское рассеяние.

Исследования эти еще далеко не закончены, однако уже можно сделать следующие предварительные заключения.

Как и при обнаружении свободных радикалов, разбавленный раствор испытуемого вещества помещается в четырехугольной кварцевой камере и освещается параллельным узким пучком ультрафиолета (неразложенным тотальным излучением водородной трубки). Рассеянное излучение улавливается через коллиматор спектрографа, оптическая ось которого расположена под прямым углом к падающему пучку ультрафиолета.

Для оценки полученных результатов необходимо принять во внимание некоторые особенности биологического детектора (дрожжевых культур).

1. При сравнении порогов времени, необходимых для получения снимков спектров от физических источников (водородной трубки) на фотографической пластинке и на биологическом детекторе, выясняется, что чувствительность последнего превышает приблизительно в 10^4 — 10^5 раз чувствительность фотопластинки.

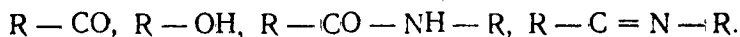
¹ Идентичность состоящих из многих полос спектров в том же в другом случае не может быть подвергнута сомнению.

2. При «митогенетических» интенсивностях облучения (порядка нескольких тысяч фотонов в секунду на 1 см^2) диапазон по времени, необходимый для получения митогенетического эффекта на дрожжевом детекторе, довольно резко ограничен в зависимости от интенсивности источника облучения, т. е. имеет силу зависимости $Jt = \text{const}$.

3. Ввиду этого в случае, если селективное рассеяние в определенном участке спектра превышает по своей интенсивности «фон», т. е. рэлеевское рассеяние, в двое и удается установить порог времени для селективных максимумов, строго одинаковое время экспозиции для всех участков спектра приводит к чередованию резко выраженных митогенетических эффектов и «пустых» участков спектра. При соответственном удлинении времени экспозиции эти пустые участки всегда заполняются, при этом в непосредственном соседстве к максимумам селективного рассеяния, обычно при удвоении времени экспозиции; в остальных участках, где имеет место лишь рэлеевское рассеяние, — при более длительной экспозиции (до трехкратной).

Селективное рассеяние свойственно, очевидно, отдельным «флюорофорным» группам сложных молекул, могущим не совпадать с «хромсфорными» группами.

Путем сопоставления результатов, полученных методом селективного рассеяния, для ряда органических соединений удалось до настоящего времени установить в общих чертах спектры флюоресценции, характерные для следующих групп.



Отождествление этих групп основано на спектральном анализе рассеяния следующих веществ:

- | | |
|---|----------------|
| 1) метилового и этилового спирта | } группа R—OH |
| глюкозы и уксусной кислоты | |
| 2) мочевины, уксусной кислоты, гликокола, формальдегида | R—CO |
| 3) гуанидина (сравнение со спектром мочевины) | группа R—C=N—R |

Этими данными, конечно, не ограничиваются возможности, открывающиеся при применении этого метода. Однако уже и теперь они нашли важное применение.

При анализе пептидов различного характера (слабых растворов сыворотки до и после интенсивного облучения кварцевой лампой или митогенетическими источниками), а также веществ, пептидная природа которых нами подозревалась (так называемый «тушитель» из раковой крови), удается установить с большой степенью вероятности наличие энольной (лактимной) группировки в одних случаях и ее отсутствие в других. Действительно, при наличии этой модификации появляются полосы, характерные для R—OH, очень слабо представленные при кетоформе пептидной связи, и полосы R—C=N—R, вовсе отсутствующие в последнем случае.

ФОТОХИМИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ МИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

РЕАКЦИИ ФОТОСИНТЕЗА

Первичные реакции молекулы на поглощение фотона могут быть различны: отдача поглощенной энергии ударами второго рода или ее обратное «высвечивание» (резонансное излучение), ионизация или фотодиссоциация. В последнем случае освобождаются радикалы, могущие при известных условиях вступать в новые рекомбинации, приводящие к истинному фотосинтезу.

Фотоны, вызывающие тот или иной из этих процессов, не должны во всех случаях непременно подводиться данной системе извне. Из предыдущей главы нам уже известно возникновение излучения при химических реакциях. В случае наличия в растворе нескольких различных тел всегда возможно, что эти фотоны «внутреннего» происхождения, возникшие в результате реакции $A+B$, повлекут за собой один из упомянутых выше фотоэффектов, например, синтез молекул C и D и т. д.

Обнаружение любой из реакций, являющейся следствием поглощения ультрафиолета митогенетической интенсивности, связано одной предпосылкой основного значения: поглощение фотона должно быть стартом цепной реакции с большим выходом. Другими словами, один первичный элементарный акт должен привести в результате к очень большому числу вторичных. В противном случае эффект поглощения нескольких сот фотонов не мог бы быть обнаружен.

Цепные, доступные нашему наблюдению реакции могут быть разделены по различным принципам. Во-первых, по признаку излучения: реакции, сопровождающиеся излучением (вторичное излучение) и протекающие без излучения; во-вторых, по характеру конечных продуктов: реакции, охарактеризованные по существу образованием продуктов фотодиссоциации и противопоставляемые реакциям синтетического характера.

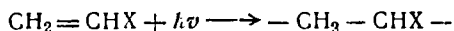
Насколько мы можем судить в настоящее время, оба принципа классификации приводят к совпадающим результатам: реакции, сопровождающиеся излучением, приводят в химическом отношении к фотодиссоциации. Процессы фотосинтеза, наоборот, не сопровождаются излучением, обнаруживаемым нашими методами.

Наряду с этими двумя категориями реакций, вызываемых облучением простых или составных растворов извне, при некоторых специальных условиях возникают и комбинации обоих процессов, т. е. протекают в одном и том же субстрате и процессы фотодиссоциации, сопровождающиеся излучением, и процессы синтеза (поликонденсации) образовавшихся в первом процессе радикалов.

В современной литературе по процессам полимеризации встречаются многочисленные указания на участие в них лучистой энер-

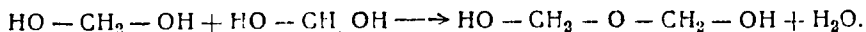
гии. Однако лишь путем митогенетического анализа удается обнаружить процессы фотосинтеза пептидов.

Механизмы полимеризации и поликонденсации резко отличаются друг от друга: в первых случаях исходным пунктом цепного процесса является возбуждение молекулы (чаще всего (с двойной связью):



Образовавшиеся в силу разрыва двойной связи свободные валентности приводят к присоединению такой же, но не возбужденной молекулы и в силу экзотермичности этой реакции присоединения, к выделению энергии возбуждения для дальнейшего продолжения такого же присоединения все новых мономер.

Конденсация связана с установлением связи между мономерами путем выделения молекулы воды:



При обычных способах возникновения конденсация не представляет собой цепную реакцию, так как каждый единичный акт приблизительно термонеutralен, т. е. не освобождает энергии для дальнейшего акта, на который требуется каждый раз затрата некоторой энергии активации. Так, например, в приведенном нами примере отщепление Н от О и О от С требует затраты энергии приблизительно в 190 ккал (110 + 84); затрата эта компенсируется образованием H_2O из $\text{H} + \text{OH}$ и простой связи О с С.

Мы будем рассматривать лишь процессы конденсации, так как в настоящее время у нас нет определенных данных о реализации путем митогенетического облучения процессов полимеризации.

Митогенетическое облучение аминокислот приводит к образованию из них полимеров, которые мы вправе рассматривать как пептиды. Основанием для этого служат следующие данные:

1. Образующееся в очень слабых концентрациях вещество высокомолекулярно. В этом можно убедиться на основании отрицательных результатов диализа через коллоидную пленку. Если, согласно общепринятым данным, принять для молекулы гликокола величину порядка $3,5 \text{ \AA}$, то из результатов диализа вытекает, что образующиеся пептиды представляют собой нитевидные молекулы не меньше чем из десятка мономер.

2. Образующиеся из определенных комбинаций аминокислот поликонденсаты подвергаются расщеплению пепсином (желудочным соком). В этом можно убедиться путем митогенетического спектрального анализа, так как при прибавлении желудочного сока возникает излучение с характерным «пептидным» спектром из 9 полос, указывающим на наличие пептидной связи.

3. Процесс поликонденсации может быть обнаружен и при соответственном облучении растворов пептона. В то время как (что и следовало, конечно, ожидать) нормальный раствор пептона не реагирует на прибавление желудочного сока, такой же раствор после предварительного облучения дает при прибавлении пепсина типичный пептидный эмиссионный спектр.

Кроме того, изменения пептона от митогенетического облучения обнаруживаются и чисто оптическим путем — заметным увеличением поглощения в области примерно от 2400 до 2800 Å, типичной для белковых тел. Для приблизительной количественной оценки этого оптического эффекта можно прибегнуть к спектр-эталонам очень разбавленных растворов белков, прибавляя их к

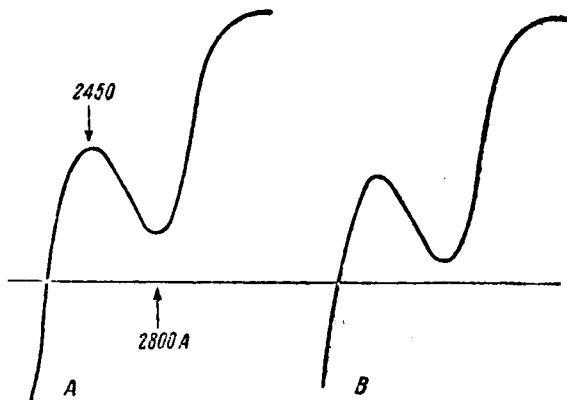


Рис. 4. Спектр поглощения пептона.

А—до облучения; В—после облучения. Точная обрисовка микрофотометрических кривых со сглаживанием мелких зубцов на кривых.

стандартному необлученному раствору пептона. Отмеченное на облученном пептоне усиление поглощения соответствует приблизительно 10^{-5} раствору белка.

Из опытов Бергмана и Фруттона (Bergmann и Frutton) известно, что далеко не все синтезированные ими из различных аминокислот трипептиды расщепляются желудочным соком. Необходимой предпосылкой для успеха являлось участие дикарбоновой аминокислоты (т. е. глутаминовой или аспарагиновой кислоты). Вторым партнером в их опытах была всегда одна из ароматических аминокислот (тирозин и триптофан) и, кроме того, обычно гликокол.

Между результатами этих авторов и нашими данными существует совпадение: и в наших опытах необходимо участие одной из дикарбоновых кислот. Однако фотосинтез удается, насколько можно о нем судить по излучению, при прибавлении желудочного сока и без участия ароматической аминокислоты. Для успеха достаточно наличия двух партнеров; вторым из них обычно бывает гликокол. Относительно того, может ли он быть заменен другой аминокислотой, до сих пор не получено однозначных данных.

В противоположность обычным реакциям поликонденсации реакция пептидного синтеза путем облучения обладает свойствами цепной реакции. В этом можно убедиться уже из самого факта ее обнаружения при использовании обычных митогенетических источников облучения.

Выход 1 : 1 или меньший, что имело бы место при реакции нецепного характера, не мог бы, конечно, привести к ощутимым результатам. Цепной характер реакции может быть непосредственно доказан и иными путями:

1) нарастанием эффекта по времени, захватывающим промежутков по крайней мере в несколько минут;

2) распространением реакции на довольно значительное расстояние от места облучения.

Как видно из рис. 5, после облучения в отрезке А трубки закрывается сообщение с отрезком В. По истечении приблизительно 10 минут открывается минуты на две сообщение В ю С и через



Рис. 5. Объяснение в тексте.

30 минут из разобщенного участка С, на расстоянии около 20 см от места облучения, берется проба на реакцию с желудочным соком.

Эффект резко положительный.

Механизм фотохимического процесса пептидного синтеза удается выяснить из анализа энергетического баланса.

Процесс образования пептидной связи состоит из следующих звеньев:

1. Отщепление Н от группы NH ₂	— 87 ккал
2. Отщепление ОН от СООН	— 80 ккал
3. Н + ОН → Н ₂ О	+ 110 ккал
4. СО + NH → СО — NH	+ 60 ккал

Баланс . . . + 3 ккал

Таким образом, мы видим, что образование пептидной связи — по существу термонеЙтральная реакция, но совершается, конечно, при затрате некоторой энергии активации.

В противоположность фотохимическим реакциям, сопровождающимся вторичным излучением и возникающим только с соблюдением условий резонанса, реакция фотосинтеза пептидов не обнаруживает никакой селективности относительно длины волны применяемого облучения.

Любой участок спектра, начиная от самого коротковолнового (1900 Å), оказывается качественно одинаково эффективным, вплоть до вполне определенной и сравнительно резко очерченной длинноволновой границы, различной в темноте и при подсвечивании видимым светом. В первом случае граница соответствует 2700 Å = 105 ккал, во втором — 3260 Å = 87,4 ккал¹.

При наличии подсвечивания граница сдвигается примерно на 18 ккал. Если исходить из необходимости 105 ккал (соответственно 2700 Å) при отсутствии других источников энергии, то стано-

¹ Эти определения, конечно, не превышают точности примерно в 20 Å.

вится вероятным, что энергия фотона используется в данном случае на два отдельных акта. Ввиду того что длинноволновая граница при подсвечивании лежит у 87 ккал, можно предположить, что и в первом случае распределение энергии совершается таким образом, что на один акт затрачивается 87 ккал, на второй — остаток, равный 18 ккал.

Из энергетического баланса мы видели, что 87 ккал соответствует энергии связи H и NH₂. Мы можем поэтому предположить, что начальное звено фотохимического процесса состоит именно из расщепления NH₂ → NH + H. Правильность этого вывода подтверждается различными видоизменениями комбинаций облучения.

Так как с чисто энергетической точки зрения добавочно к фотону, эквивалентному 87 ккал (=3 260 ккал), необходима энергия, равная 18 ккал, то нет необходимости в подсвечивании видимым светом, т. е. большим избытком энергии, так как 18 ккал эквивалентны приблизительно 15 000 Å, т. е. ближнему инфракрасному. Действительно, комбинация ультрафиолета, равная 3 260 Å, и инфракрасного, равная 15 000 Å, дает эффект пептидного синтеза, совершенно одинаковый с указанными выше условиями, т. е. с подсвечиванием видимым светом или облучением 2 700 Å.

К одинаковым результатам приводят и любые другие комбинации двух фотонов, удовлетворяющие одному условию, а именно, чтобы ультрафиолетовый фотон был равен или превышал энергию 87 ккал (т. е. был $\geq 3\,260 \text{ Å}$)¹.

При данном нами столкновении энергетической границы синтезирующего действия фотонов необходимо, однако, учесть еще и другую возможность — границу заметного поглощения длинноволнового ультрафиолета аминокислотами.

Начиная приблизительно с 2 700 Å в длинноволновую сторону, поглощение ультрафиолета неароматическими кислотами становится очень слабым. В области около 3 000 Å и несколько далее поглощение может быть обнаружено лишь в больших концентрациях и толстых слоях растворов. Однако, как видно из микрофотограммы (рис. 6), резкой границе эффективности у 3 260 Å не соответствует заметный перелом в коэффициенте поглощения, и поэтому это обстоятельство не может иметь сколько-нибудь решающего значения для предела эффективности ультрафиолета.

Но вполне естественно, что степень поглощения различных участков спектра должна отзываться на количественной стороне процесса: действительно, облучение коротковолновыми участками спектра оказывается, повидимому, более эффективным, чем использование длинноволновой части ультрафиолета. Получение

¹ Комбинация 3 300 Å (86 ккал) + 14 000 Å (19 ккал) дает уже сомнительные результаты.

количественных данных, однако, чрезвычайно затруднено тем обстоятельством, что обычные источники ультрафиолета обладают гораздо большей интенсивностью в длинноволновой части и технические приемы для выравнивания абсолютных интенсивностей двух далеко расположенных участков спектра довольно сложны.

Энергетический баланс акта образования пептидной связи делает понятным, что при облучении ультрафиолетом реакция поликонденсации приобретает цепной характер.

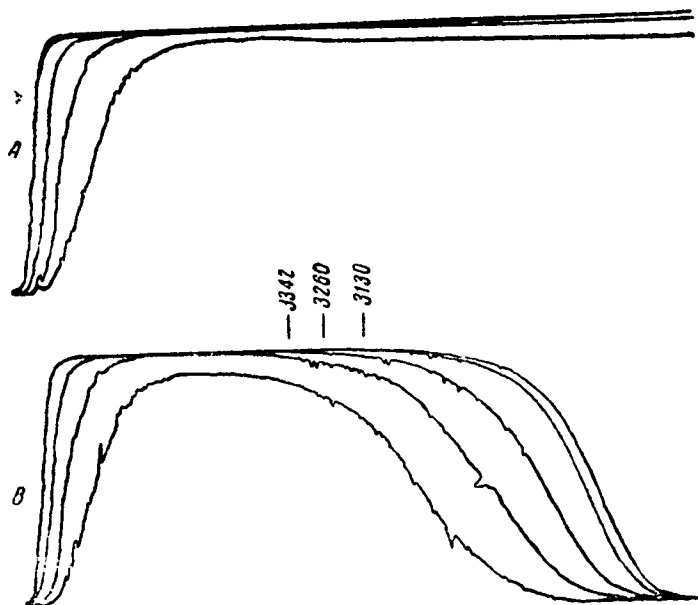


Рис. 6. Спектры поглощения слоя в 19 см воды (А) и 2% раствора гликокола (В). Фотографические снимки произведены через ступенчатую щель коллиматора. Обратит внимание на очень незначительное различие в степени поглощения предельной активной полосы 3260 Å и неактивной — 3342 Å.

Действительно, при приложении энергии не ниже 105 ккал (например, в виде фотона ультрафиолета, равного 87 ккал, и инфракрасного), ввиду термонейтральности реакции, затрачивается энергия инфракрасного фотона (энергия активации). Энергия ультрафиолетового фотона, поглощенная при старте образования пептидной связи, освобождается при завершении этого акта и может быть использована для следующего идентичного акта, т. е. обуславливает цепной характер процесса, конечно, при условии непрерывного дальнейшего подсвечивания инфракрасным светом. Действительно, удалось обнаружить, что цепная реакция, т. е. увеличение концентрации синтезированного пептида, после облучения требует подсвечивания видимым или инфракрасным светом и прекращается при полном затемнении. В настоящее время еще не удается выяснить, до какой предельной concentra-

ции можно довести фотосинтез пептидов. Ввиду цепного характера реакции нельзя, конечно, ожидать пропорциональности или иного вида простой зависимости между интенсивностью облучения и количеством синтезированных молекул. В особенности следует принять во внимание и возможность обратных процессов, т. е. разрыва пептидных связей при поглощении фотонов. Возможно также, что особенно большое значение здесь имеет фактор времени, т. е. общее количество фотонов, подведенное к данному объему субстрата за короткое время, может дать менее благоприятные результаты, чем то же количество, более растянутое по времени.

Эти соображения приобретают интерес при обсуждении вопроса о значении процессов пептидного синтеза в живых системах и при этом роли их митогенетического режима. Вполне естественно ожидать, что постоянный, хотя и слабый, лучевой режим будет поддерживать процессы синтеза на определенной высоте, большей, чем это возможно при временном, сравнительно интенсивном облучении.

Образование пептидов, обнаруживаемых в смесях двух или нескольких аминокислот, вследствие реакции расщепления желудочным соком, представляет лишь частный случай более общего процесса поликонденсации любой одной аминокислоты.

Полученные при этом поликонденсаты не подвержены расщеплению желудочным соком, но обладают рядом свойств, позволяющих их легко идентифицировать и проливающих свет на сложные процессы поликонденсации при воздействии ряда ферментов на растворы аминокислот.

Основным симптомом такой поликонденсации является возникающее через некоторое время после кратковременного облучения излучение, длящееся без заметного ослабления в течение многих часов.

Легко убедиться, что этот феномен связан с появлением в растворе аминокислоты высокомолекулярного тела, которое по совокупности данных может быть только конденсатом.

Речь идет о следующих фактах:

1. Излучение облученной аминокислоты исчезает после нагревания до 70—80°, но сохраняется при осторожном высушивании при 38° и растворении осадка.

2. После диализа облученной аминокислоты через коллоидную пленку излучение сохраняется исключительно внутри гильзы, из чего можно заключить, что оно как-то связано с высокомолекулярным телом.

3. Энергетические условия облучения, т. е. ограничение эффективности облучения в длинноволновую сторону, участие видимого или инфракрасного света и т. д., вполне совпадают с теми, которые являются предпосылкой для описанных нами поликонденсатов из двух или нескольких аминокислот.

Цепной характер процесса обнаруживается с особой яркостью посредством так называемых «переносов».

Мы приведем в виде примера одну из таких серий с повторными переносами: 0,5% раствор гликокола испытывается немедленно после облучения с положительным эффектом и после этого разбавляется необлученным гликоколом в отношении 1:10. Испытание излучения немедленно после разбавления (так называемого «переноса») дает отрицательные результаты, но по истечении приблизительно 30 минут появляется интенсивное излучение. Новое разбавление с соответственными испытаниями излучения приводит всегда к одним и тем же результатам без всякой тенденции к ослаблению.

Порядковый номер переноса . . .	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Немедленное излучение (в %) . . .	—	2	8	14	7	—	—	7	4	9	13
Излучение через полчаса (в %) . . .	74	44	55	50	20	—	—	41	80	48	80

(5-й и 6-й переносы не подвергались испытанию)

Несмотря на то, что при прибавлении свежего субстрата процесс конденсации продолжается без всякого ограничения по времени, он приостанавливается на очень низком уровне концентрации. Равновесие устанавливается, повидимому, вследствие частичной обратимости процесса. В этом можно убедиться при помощи следующего простого приема.

Через некоторое время после переноса к раствору прибавляется в небольшом количестве каолин и смесь подвергается повторному встряхиванию, после чего интенсивно центрифугируется, причем каолин образует плотный осадок. По прошествии приблизительно полчаса повторяется встряхивание с той же порцией каолина и с его последующим отцентрифугированием.

После многократного повторения этой процедуры и последнего центрифугирования раствор аминокислоты сливается и заменяется тем же количеством элюционной жидкости. Концентрация конденсата в элюате достигает при этом по крайней мере десятикратной величины по сравнению с той, которая устанавливается спонтанно в растворе без повторного встряхивания.

Результат этот объясняется следующим образом. После встряхивания в растворе остаются лишь следы конденсата и поэтому нарушается равновесие и возобновляется дальнейший процесс обогащения. Таким образом, за счет данного раствора аминокислоты получается гораздо большее количество конденсата, чем без вмешательства, сводящегося к удалению излишков. Само собой разумеется, что при облучении смеси двух или нескольких аминокислот описанные нами только что процессы также имеют место. Разница заключается лишь в том, что одновременно могут протекать процессы двух различных видов:

1. Образование гомогенных конденсатов, составленных из остатков одной аминокислоты, т. е. уже описанный нами процесс. Такие конденсаты не подвергаются воздействию желудочного сока.

2. Образование поликонденсатов смешанного характера, расщепляемых желудочным соком.

Поликонденсация пептидов из аминокислот возможна и путем применения синтезина (см. главу первую). Приблизительно через час после прибавления к раствору смеси глутаминовой кислоты и гликокола небольших количеств водной вытяжки из печени или опухоли добавление желудочного сока дает ярко выраженный митогенетический эффект.

Легко убедиться, что синтез пептида совершается и здесь через посредство ультрафиолетовых фотонов, «синтезируемых» из фотонов видимого света. Это вытекает из полной зависимости процесса от видимого света и из сопоставления этого факта с известными нам уже данными спектрального анализа (см. главу первую).

Мы приведем в качестве иллюстрации несколько примеров.

1. 2% раствор глутаминовой кислоты и гликокола с небольшим прибавлением печеночной вытяжки. После часа стояния прибавление желудочного сока. Весь процесс на свету. Эффект = 40%.

2. То же, но пребывание смеси в темноте, прибавление желудочного сока на свету. Эффект = 2%.

3. То же, но освещение ярким зеленым светом (5 000 Å). Эффект = 72%.

4. То же, но без прибавления печеночной вытяжки. Эффект = 2%.

5. Повторение (3), но освещение красным светом (6 000 Å). Эффект = 8%.

Мы убедимся в дальнейшем, что в совершенном соответствии с энергетическим пределом для процесса поликонденсации констатируется и предел эффективности синтезина в качестве агента, стимулирующего клеточное деление.

ГЛАВА ТРЕТЬЯ

УЧАСТИЕ ПРОЦЕССОВ ФОТОСИНТЕЗА В ОБРАЗОВАНИИ ФЕРМЕНТОИДОВ

А. ОБЩИЕ ДАННЫЕ О ФЕРМЕНТОИДАХ

Всесторонний анализ излучения, возникающего при облучении любой аминокислоты, проливает свет на совершенно еще не выясненный вопрос о возникновении ферментов и, быть может, и на некоторые их свойства.

В настоящее время на основании ряда обстоятельных исследований нашей лаборатории (начиная с 1937 г.) твердо установлен следующий факт основного значения.

При прибавлении ничтожных количеств различных ферментов к растворам любой аминокислоты в них появляются и путем

дутокатализа беспредельно размножаются (при повторных «переносах») тела, являющиеся в одном основном отношении точными подобиями соответственных ферментов и обозначенные поэтому нами, по предложению Шершнева, как ферментоиды.

Основное сходство фермента с соответственным ферментоидом выражается в том, что при их воздействии на адекватный для фермента субстрат возникает излучение, спектральный состав которого совпадает в обоих случаях. Другими словами, например, безразлично, прибавить ли к раствору мочевины уреазу в концентрациях, уже не дающих химического эффекта, или ее ферментоид.

То же относится и к ряду испытанных до сих пор ферментов — гликолитическому, пепсину, протеазе и фосфатазе крови, аргиназе.

Помимо этого, чрезвычайно интересен и ряд дальнейших совпадений в свойствах ферментов с соответственными ферментоидами: термолабильность тех и других, зависимость их действия от концентрации водородных ионов, стимуляция или, наоборот, угнетение одними и теми же примесями. Так, например, Шершневым показано, что культура ферментоида аргиназы проявляет свое действие на аргинин (появление излучения, характерного для аргиназы спектрального состава) лишь при прибавлении ничтожных количеств марганца, что, как известно, необходимо и для действия на аргинин самой аргиназы.

Малеевой установлено, что ферментоид уреазы стимулируется небольшими количествами KCN и угнетается солями никеля, кадмия и цинка совершенно так же, как это было уже раньше установлено для самой уреазы Якоби (Jacobi)].

Чисто технические затруднения не позволили до сих пор сконцентрировать ферментоиды в мере, достаточной для обнаружения их воздействия на субстрат чисто химическими, в общем мало чувствительными методами. Правда, Малеева отметила в серии опытов сдвиг в щелочную сторону примерно на 0,2 pH раствора мочевины при воздействии ферментоида уреазы; нами обнаружен фотографическим путем сдвиг спектра поглощения глюкозы под действием ферментоида гликолитического фермента. Однако речь идет пока лишь об ориентировочных данных, которые не могут иметь особого значения¹.

Мы стоим, таким образом, перед одним из довольно многочисленных в науке случаев, где из чисто физических данных делаются выводы химического характера. На таких сопоставлениях построено использование в химии спектрального анализа.

Можно поэтому поставить вопрос: почему мы считаем необходимым отличать, несмотря на основные совпадения, ферменты от их соответственных ферментоидов?

¹ За последнее время А. М. Кузиным и О. И. Поляковой действие ферментоидов уреазы и фосфатазы обнаружено чисто химическими методами.

Это разграничение продиктовано, быть может, отчасти несколько преувеличенной осторожностью и желанием найти общий язык с консервативно настроенными биохимиками. Вместе с тем необходимо принять во внимание и следующее обстоятельство.

Нет никаких серьезных данных, позволяющих принять для ферментов молекулярный вес, хотя бы отдаленно приближающийся к истинным ферментам, т. е. белкам. В этом можно увидеть коренное различие, устраняющее всякую глубокую аналогию между ферментами и ферментами.

Можно опасаться, что последняя точка зрения останется еще надолго господствующей среди биохимиков.

Мы полагаем, однако, что все объективные экспериментальные данные, а в меньшей степени и современные представления энзимологии должны вести к самому тесному сближению ферментов с их соответственными ферментами. Мы считаем, что имеются все основания для сопоставления ферментов с простетическими (активными) группами ферментов, и постараемся обосновать несколько подробнее нашу точку зрения.

Простетические группы обнаружены и изолированы лишь у немногих ферментов и не проявляют активности без белковой слагаемой. Они не обнаружены в ряде хорошо кристаллизующихся ферментов, как пепсин, уреазы, рассматриваемых как истинные химические индивидуумы. Все это на первый взгляд говорит против нашего предположения.

Однако надо принять во внимание, что отсутствие активности изолированных от основной молекулы простетических групп не может являться решающим, как и всякий отрицательный факт. Можно лишь сказать, что активность в этих случаях настолько снижена, что методы химического анализа неприменимы. Но мы можем показать, что очень слабые растворы истинных ферментов, действие которых на субстраты уже не может быть обнаружено химическим путем, дают еще в большем разбавлении прекрасные митогенетические эффекты.

Поэтому наше предположение, что ферменты, будучи изолированными простетическими группами, оказывают очень слабое, но истинное ферментативное воздействие на субстрат, не может быть опровергнуто фактом отрицательного характера.

Но вместе с тем в энзимологической литературе все чаще высказываются предположения, что и в кристаллических энзимах, рассматриваемых как химические индивидуумы, в состав огромной молекулы входят определенные «активные» группы.

Такое предположение относительно уреазы высказал в свое время Норттроп (Northrop), а в новейшее время, отчасти ссылаясь на К. Штерна, развивает в более общей форме аналогичные взгляды В. А. Энгельгардт, анализируя свои замечательные данные относительно ферментативных свойств белков.

Мы приводим две выдержки из его последней статьи.

Обсуждая некоторые трудности, возникающие для его представлений об идентичности белков и ферментов, автор высказывает, между прочим, следующие соображения:

«Вторая мысль, которая приходит по поводу возражения о возможной «нехватке» белков для обеспечения всех каталитических потребностей клетки, это допущение возможности поливалентных белков, т. е. мысль о том, что один и тот же белок за счет различных содержащихся в его структуре специфических группировок способен осуществлять не только какую-нибудь одну, а несколько каталитических функций»¹ (стр. 189).

Наряду с этим автор приводит и гипотезу К. Штерна.

К. Штерн в результате своих исследований по окислительным ферментам высказывает интересную мысль о том, что в клетке, быть может, существуют крупные протеиновые молекулы или мицеллы с молекулярным весом порядка миллионов, содержащие на своей поверхности сеть каталитических активных групп, расположенных таким образом, что они обеспечивают гладкое протекание энзиматических процессов, вроде клеточного дыхания².

Не может, как нам кажется, подлежать сомнению, что приведенными нами ссылками в достаточной мере подготовлена почва для развитых нами представлений. Необходимость и, по меньшей мере, вероятность признания специальных «активных» групп в составе белковой молекулы фермента, повидимому, никем не оспаривается.

Наше утверждение, что воздействие ферментов *in vitro* на растворы аминокислот приводит к образованию из последних в крайне небольших концентрациях соответственных данному ферменту активных групп, несомненно, совершенно неожиданно и ново для классической энзимологии, но это вовсе не значит, что оно мало обосновано, потому что, несомненно, полезно время от времени подвергать критическому пересмотру даже наиболее, казалось бы, прочно обоснованные воззрения и представления.

Митогенетический анализ обнаруживает, как мы видим, совершенно новый для энзимологии факт основного значения, сохраняющий свою ценность независимо от всякого толкования.

Для любого из испытанных до сих пор ферментов существует, помимо общеизвестных, специфических для каждого из них субстратов, еще и вторая категория общих для всех субстратов, а именно любая из аминокислот³.

Отношение каждого из ферментов к последней категории субстратов принципиально одинаково: из молекулы аминокислоты каждый из них создает специфический для него ферментоид, ко-

¹ Подчеркнуто нами.

² В. А. Энгельгардт, Ферментативные и механические свойства белков мышц. Успехи современной биологии, т. 14, в. 2, 1941.

³ Испытаны до сих пор с положительным результатом: гликокол, аланин, лейцин, гистидин, глютаминовая кислота, триптофан.

торый мы с высокой степенью вероятности отождествляем с активной (обнаруженной или еще не обнаруженной) группой фермента.

Вполне естественно, что этот факт вызывает изумление и даже недоумение.

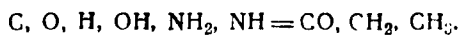
Первый требующий удовлетворительного ответа вопрос можно сформулировать следующим образом.

Как можно себе представить, что любая данная аминокислота может служить субстратом для синтеза самых различных ферментов и вместе с тем любой данный фермент вырабатывает один и тот же специфический для него ферментоид из любой аминокислоты?

На этот вопрос возможен, повидимому, лишь один ответ.

Образование ферментоида из аминокислоты надо себе представить как по меньшей мере двухактный процесс: первый акт сводится к освобождению под действием ферментов некоторых радикалов, входивших в состав молекулы аминокислоты; под вторым актом мы подразумеваем синтез из этих радикалов соответственных ферментоидов.

Так как результат получается одинаковый при использовании любой аминокислоты, то речь может идти лишь об общих для всех аминокислот радикалах. А так как вместе с тем синтез удается и при использовании гликокола, то набор радикалов, используемых при синтезе ферментоидов, сводится к следующему:



Это, несомненно, смелое толкование процесса образования ферментоидов должно опираться хотя бы в некоторой степени на экспериментальные данные. Мы увидим в дальнейшем изложении, в какой мере этот постулат удовлетворится.

В. АНАЛОГИЯ МЕЖДУ КОНДЕНСАТАМИ АМИНОКИСЛОТ И ФЕРМЕНТОИДАМИ

Мы видели уже, что непосредственным симптомом конденсации растворов отдельных аминокислот является возникающее спустя некоторое время после облучения раствора и длящееся много часов излучение.

Анализ условий его возникновения и спектрального состава приводит к результатам основной важности как в теоретическом, так, как мы увидим дальше, и в практическом отношении.

Во-первых, легко убедиться, что, в то время как конденсация аминокислот протекает и в анаэробных условиях, излучение при этом процессе возникает лишь при притоке атмосферного кислорода.

Хорошо прокипяченным раствором аминокислоты (например, 0,5% гликокол) заполняют без пузырьков воздуха герметическую камеру с кварцевым окном, через которое производится как облучение, так и последующее испытание на излучение.

Через полчаса после облучения при достаточно длительной экспозиции можно констатировать в излучении раствора полосу в области $3\ 060\ \text{Å}$, характерную для радикала OH .

При соприкосновении раствора с воздухом немедленно появляется новая, резко очерченная линия $2\ 290\text{—}2\ 300\ \text{Å}$.

Анализ этой полосы вскрывает весь своеобразный механизм процесса.

Речь идет о флюоресценции молекулы NH_3 . Этот факт установлен методом сенсibilизированной флюоресценции (Б. Нижаноров). Следы аммиака прибавляются к системе глюкоза—гликолитический фермент (например, зимаза дрожжей). При этом, наряду с обычным «гликолитическим» спектром, появляется и полоса $2\ 290\text{—}2\ 300\ \text{Å}$.

Появление аммиака в растворе аминокислоты при непрерывном участии кислорода не оставляет, конечно, сомнения в том, что мы имеем дело с окислительным дезаминированием аминокислот, т. е. с процессом, чисто внешним образом совпадающим с действием истинной дезаминазы. Однако в противоположность настоящему энзимам, каждый из которых специфичен лишь для одной из аминокислот, дело идет о механизме универсального характера, одинаковом для всех испробованных до сих пор аминокислот.

Хотя аналогия между анализируемым процессом и истинной дезаминазой на первый взгляд чисто внешняя, однако расчет энергетического баланса может пролить некоторый свет и на общие принципы энзиматозных процессов.

Мы видели уже, что в энергетической схеме процесса образования пептидной связи наличие O_2 не принимается в расчет. В полном соответствии с этим сам процесс конденсации продолжается и в анаэробных условиях. При наличии кислорода создаются, однако, новые условия.

Мы можем написать следующий энергетический баланс.

При каждом очередном акте образования пептидной связи после облучения освобождается, как мы видели, около 87 ккал, которые и могут явиться стартом для акта дезаминирования молекулы аминокислоты (например, аланина), согласно следующему расчету:

1. Отщепление H от CH	— 93 ккал
2. Отщепление NH_2 от C	— 60 ккал
3. $1/2 (\text{O}_2 \rightarrow \text{O} + \text{O})$	— 59 ккал
4. $\text{NH}_2 + \text{H} \rightarrow \text{NH}_3$	+ 87 ккал
5. $\text{C} + \text{O} \rightarrow \text{CO}$	+ 167 ккал

Сумма . . . + 42 ккал

Освобождающаяся энергия +42 ккал, конечно, недостаточна для возбуждения ультрафиолета, и необходимо участие видимого света [два фотона, не меньше $7\ 000\ \text{Å}$ (красный свет) каждый].

Приведенная только что энергетически возможная схема окислительного дезаминирования и появления линии флюоресценции возбужденного NH_3 не представляет, конечно, аналогии между синтезированным путем облучения полипептидом и ферментами. Тем не менее при дальнейшем изучении всех обстоятельств процессов поликонденсации приходится прийти к выводу, что аналогия между свойствами поликонденсата и энзимами гораздо глубже, чем это могло показаться с первого взгляда.

Рассматриваемые нами процессы конденсации аминокислот осложняются еще и дальнейшими явлениями. При чрезмерно длительном (или интенсивном) облучении растворов утрачивается их способность к последующему излучению. Обнаружилось, что в них появляется тушитель, подавляющий излучение. Однако первоначальные свойства конденсата при этом лишь замаскированы тушителем и могут проявиться в форме излучения снова, если раствор подвергнуть достаточно длительному ионтофорезу; тушитель, заряженный отрицательно, скапливается в анодной фракции, и остающийся в катодной фракции конденсат восстанавливает излучение.

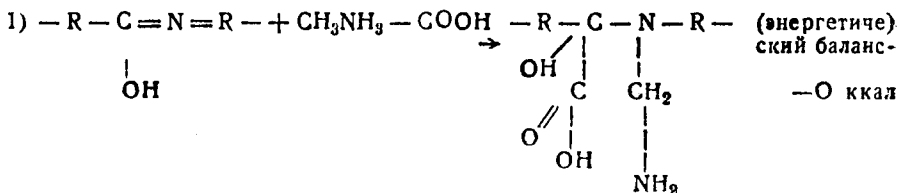
Необходимо, конечно, предположить, что вторая модификация конденсата («тушитель») возникает уже с первых этапов процесса конденсации, но накапливается медленнее, чем основной конденсат, и поэтому проявляет себя лишь при достаточно длительном (или интенсивном) облучении. Это предположение укладывается в простую энергетическую схему.

Поглощение молекулой аминокислоты одного фотона (не меньше 87 ккал) приводит, согласно нашему основному толкованию, к отщеплению атома Н от аминогруппы, что является стартом для установления пептидной связи.

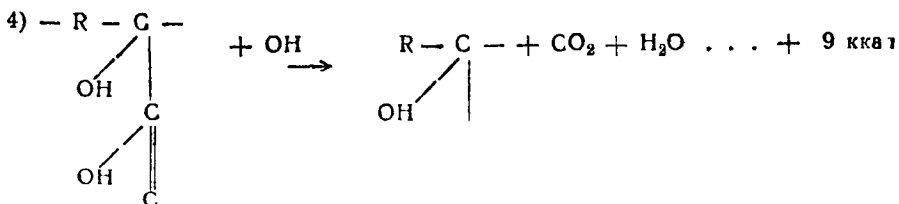
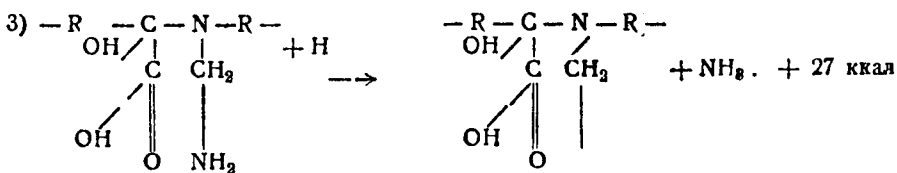
Поглощение второго фотона может повлечь отделение второго атома Н от аминогруппы пептидной связи с дальнейшим его присоединением к О кетоформы и установлением двойной связи между С и N, т. е. к образованию лактимной (энольной) формы пептидной связи. Ряд экспериментальных данных указывает с большой вероятностью, что именно лактимная форма пептидов обладает способностью к тушению.

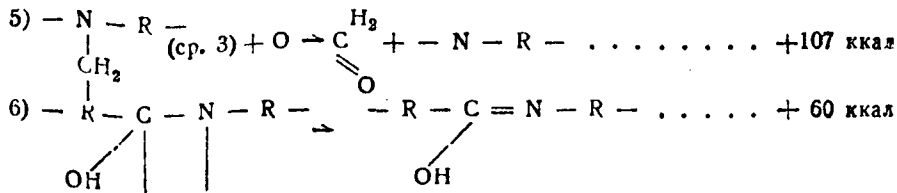
Вместе с тем лактимная форма обладает, как известно, большей реактивностью, чем кетоформа (вследствие двойной связи), и нетрудно построить чисто гипотетическую энергетическую схему реакции между этой модификацией пептида и аммиакосилой, представляющую далеко идущую аналогию с классическими представлениями о механизме действия истинных ферментов, в данном случае процесса окислительного дезаминирования.

Представим себе, что при сравнительно незначительной энергии активации разрывается двойная связь между С=N и между двумя С молекулы гликокола с их присоединением к свободным валентностям С и N.



В дальнейшем идет следующий ряд реакций:





Сумма . . . + 34 ккал

Мы видим, что при этой энергетически возможной последовательности процессов двойная связь $\text{C}=\text{N}$ (лактимная форма) восстанавливается при одновременном распаде гликокола на NH_3 , CO_2 и CH_2O .

Эта, конечно, пока чисто гипотетическая конструкция сближает конденсат аминокислот (в его лактимной модификации) еще больше с истинными ферментами¹.

Особого рассмотрения требует вопрос: почему процессы поликонденсации (или обогащения ферментоидов) останавливаются на уровнях ничтожных концентраций?

Естественно предположить, что мы имеем дело с частично обратимыми процессами и что, следовательно, между исходным веществом и конденсатом устанавливается подвижное равновесие. В этом можно убедиться следующим образом.

Если встряхнуть раствор с каолином, после чего концентрация в нем конденсата сводится к минимуму, в растворе заново начинается процесс обогащения. При многократном встряхивании с одним и тем же количеством каолина, который после каждого встряхивания интенсивным центрифугированием осаждается на дно сосуда, удается увеличить концентрацию конденсата в конечном элюате от каолина примерно в 40 раз по сравнению с первоначальной. Этим самым доказано, что накапливающийся при цепной реакции, вызванной облучением извне и поддерживаемой в дальнейшем собственным излучением, конденсат тормозит дальнейший процесс конденсации, т. е. что устанавливается определенное равновесие между концентрацией аминокислоты и образующимся из нее конденсатом.

¹ Энергетический баланс дезаминирования и возбуждения излучения (флуоресценции) выводится, как мы видим, без включения свободных радикалов. Однако наличие свободной карбонильной группы $\text{C}=\text{O}$ и O необходимо предположить ввиду того, что при прибавлении к излучающей системе конденсата веществ с коротковолновым спектром флуоресценции (например, глюкозы) появляется, как мы видим, и линия 1900 \AA , соответствующая 150 ккал. Соответственная энергия может быть получена лишь при рекомбинации $\text{C}=\text{O}$ и O . Наличие карбонильной группы обнаруживается путем резонансного излучения. Энергетически отщепление некоторого количества радикалов возможно, если принять во внимание два источника энергии: во-первых, освобождающейся при каждом акте образования пептидной связи кванта, равного 87 ккал, во-вторых, доставляемой при использовании фотона видимого света.

можно показать, что мы имеем дело, повидимому, с «самоотравлением» конденсата продуктами дезаминирования. Действительно, если воспрепятствовать последнему по возможности полным выключением кислорода, то раствор, приведенный в соприкосновение с воздухом через 3—4 дня после облучения, начинает немедленно излучать. Еще убедительнее в этом направлении опыты со сдвигом рН, в еще большей степени сближающие конденсат с ферментами.

Нормальное для появления излучения рН лежит у 7,0. При подкислении соляной кислотой до рН = 2,5—3 излучение прекращается и возобновляется снова при соответственной нейтрализации раствора. Между подкислением и нейтрализацией может пройти, повидимому, совершенно неограниченный промежуток времени. В опытах Гордон и Малеевой он был доведен до 9 дней.

Мы полагаем, что все эти данные настолько расширяют и углубляют аналогию между полученным путем облучения конденсатом аминокислот и истинным ферментом, что мы имеем некоторые основания обозначать первый как «ферментоид дезаминазы»; при этом следует отметить, что вместо строгой специфичности истинных дезаминаз ферментоид одинаково действует на любую аминокислоту. Следует при этом вспомнить указание Варбурга на то, что специфичность ферментов обусловлена их белковой слагаемой.

С. ОБРАЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОИДОВ ЗА СЧЕТ АМИНОКИСЛОТ

Мы подготовлены теперь к детальному анализу процесса образования ферментоидов за счет аминокислот. Мы будем черпать при этом фактический материал из новейших работ Шершнева и Малеевой, которые во всех отношениях подтвердили наши данные, касающиеся других ферментов и относящиеся к 1938 г.

Нами были обнаружены ферментоиды фосфатазы, протеазы и «гликолитический», подразумевая под этим начало, вызывающее излучение раствора глюкозы.

Исследования Малеевой относятся к ферментоиду уреазы, стандартный раствор которой приготавлился из обезжиренной муки соевых бобов (5,0 муки на 25,0 воды оставлялись на холоду 12 часов, и после этого раствор отфильтровывался.

Исходя из стандартной концентрации как единицы, приготавливали растворы различной концентрации и устанавливали предел обнаруживаемости действия фермента как химическим, так и митогенетическим путем. Митогенетическим методом обнаруживается еще эффект при концентрации 10^{-5} ; разведение 10^{-6} давало лишь намеки на эффект.

Автор исходил обычно из этой концентрации и разбавлял ее раствором глюкозокола (0,5%) в отношении 1:10. Такой раствор уреазы не излучает через полчаса по разведению. Но при прибав-

лении к раствору мочевины (по расчету 0,25—0,5%) излучение резко обнаруживается в растворе, постоявшем до прибавления мочевины полчаса, и совершенно отсутствует в свежеприготовленном. Через полчаса после первого разведения производится второе с теми же сроками и теми же результатами, как и первое, и процедура повторяется любое число раз с совершенно постоянными результатами. Как нами, так и Шершневым и Малеевой эти переносы доводились до 12—14-й¹ степени без какого-либо признака ослабления эффекта через полчаса после последнего переноса. Мы приводим здесь краткую выдержку из одного из протоколов Малеевой.

Порядок переноса	0	4-й	8-й	12-й
Время по приготовлении переноса в минутах	0—30	0—30	0—30	0—30
Эффект излучения в %	3	66	6	41
		7	41	3
			52	

Контролями к таким сериям являются переносы не в растворы гликокола, а в воду.

Таким образом, является совершенно несомненным, что за счет аминокислоты происходит беспредельное обогащение ферментоида уреазы.

Если принять во внимание, что предельная концентрация активной уреазы, обнаруживаемая митогенетическим методом, близка к 10^{-5} , то мы приходим к выводу, что положительный эффект в переносе 12-го порядка равнозначен тому, что исходное количество взятой для опыта уреазы (или ее активной группы) увеличилось в 10^{-7} раз.

Из этого ясно, что получение ферментоида в любых весомых количествах не встречает никаких теоретических затруднений и сводится к чисто техническим процедурам, специально к повторной адсорбции.

Адсорбция производилась на каолин, элюция — фосфатным буфером или слегка подщелоченной водой. Ферментоид переходит почти нацело в адсорбат, фильтрат после встряхивания дает лишь намеки на эффект при прибавлении мочевины.

Приводим данные Малеевой:

Элюат с мочевиной (эффект в %)	Фильтрат с мочевиной (эффект в %)
75	2
71	13
80	5
96	18
100	13

Специальными опытами было установлено, что элюаты выдерживают осторожное высушивание, инактивируются температурой

¹ Ферментоид фосфатазы получен нами за последнее время и в 20-м переносе, т. е. при разбавлении в 10^{-20} .

в 70—80°, не диализируют через коллоидную пленку, т. е. являются несомненно высокомолекулярным телом.

Исследования Малеевой обнаружили ряд дальнейших совпадений между свойствами уреазы и ее ферментоида.

Оба они имеют одинаковый, именно отрицательный заряд. И та, и другая активируются прибавлением небольшого количества цианистого калия и угнетаются анионами никеля, кобальта и цинка¹.

Эффект переноса уреазы без KCN в %	Экспозиция в минутах		
41	8		
18	7		
То же с прибавлением KCN в %	Экспозиция в минутах		
61	8		
21	5		
19	4		
Перенос уреазы без солей в %	То же с прибавлением солей в %		
	Zn	Ni	Co
35	10	3	3
48	12	14	10

Активирующее действие KCN наблюдалось также и при его добавлении к ферментоиду, уже инактивированному действием солей перечисленных металлов. Наконец, в заключение была констатирована полная идентичность спектров систем уреазы — мочевины и ферментоида уреазы — мочевины².

Исследования Шершнева, посвященные условиям возникновения ферментоида аргиназы, расширили наши представления в этой области.

Как известно, молекула аргиназы содержит в рыхлой связи атом марганца, отделимый, например, путем диализа, после чего молекула фермента инактивируется. Некоторые авторы сравнивают поэтому марганец с коферментом.

Этот факт делал безнадежной всякую попытку повторных переносов аргиназы, сопряженных, конечно, с соответственным громадным разбавлением концентрации марганца. Однако исходя из того, что связь марганца в молекуле аргиназы чрезвычайно рыхлая, Шершнев попытался активировать переносы аргиназы высоких порядков прибавлением некоторого количества марганца в виде серноокислой закисной соли (исходная концентрация 0,006 моля).

¹ Данные, касающиеся уреазы, заимствованы из работы Якоби.

² Первый из них был в свое время получен Прокофьевой.

Предположение Шершнева вполне оправдалось, и при этих условиях ферментоид высоких переносов (до 12-го порядка) вызывал в растворе аргинина такой же митогенетический эффект, как истинная аргиназа.

Следует при этом отметить, что эффект прибавления марганца сказывается не непосредственно, а лишь через 30 минут.

Мы приводим в качестве иллюстрации выдержку из протоколов Шершнева:

Пятье переносы ферментоида аргиназы

Прибавление аргинина одновременно с марганцем (эффект в %)	0	4	—6	0
То же, прибавление аргинина через 30 минут после прибавления марганца (эффект в %)	27	37	71	63

Наряду с обычными переносами с интервалами не меньше полчасика Шершневым проведены контрольные опыты: последовательные переносы в обычном отношении 1 : 10 производились непрерывно, в возможно быстром темпе. После прибавления к 12-му переносу марганца и субстрата можно было убедиться в полном отсутствии митогенетического эффекта, т. е. в инактивности переноса. Медленное течение процесса обогащения, т. е. образования ферментоида, выясняется здесь с особой наглядностью.

Приведенные нами фактические данные двух новейших работ нашей лаборатории, представляющих лишь часть фактически накопленного материала, не оставляют, по нашему мнению, никакого сомнения в самой тесной связи между истинными ферментами и их ферментоидами.

D. МЕХАНИЗМ ОБРАЗОВАНИЯ ФЕРМЕНТОИДОВ И УЧАСТИЕ ФОТОНОВ В ЭТОМ ПРОЦЕССЕ

Экспериментальное подтверждение высказанных нами предположений о первом акте образования ферментоидов выполнено с полным успехом Шершневым: им действительно обнаружено появление радикалов. Мы сообщаем вкратце первые результаты этой новой и еще недостаточно обследованной области.

Мы предполагаем, что непосредственное воздействие ферментов на аминокислоты (при условии дополнительных источников энергии) выражается в расщеплении (полном или частичном) их молекул на радикалы, служащие материалом для дальнейшего синтеза молекулы ферментоида.

Обнаружение свободных радикалов (конечно, в ничтожных концентрациях) митогенетическими методами возможно двумя путями: непосредственным спектральным анализом в том случае, если налицо уже возбужденные радикалы или в противном случае их возбуждение путем резонансного подсвечивания.

В первой фазе разбираемого нами процесса осуществлена первая альтернатива: в промежутке между приблизительно 8 и 15 ми-

нутами после акта переноса раствор обнаруживает излучение, затухающее приблизительно через 20 минут.

Спектральный анализ, проведенный Шершневым, дал результаты чрезвычайной важности.

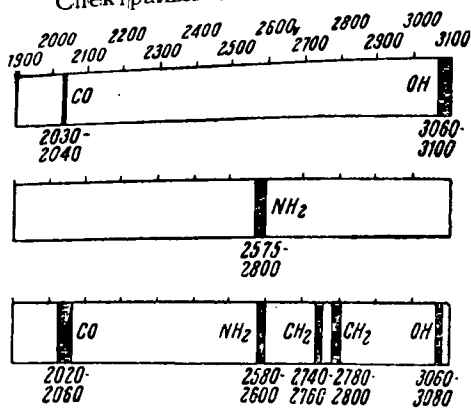


Рис. 7. Сравнительная таблица эмиссионных спектров радикалов

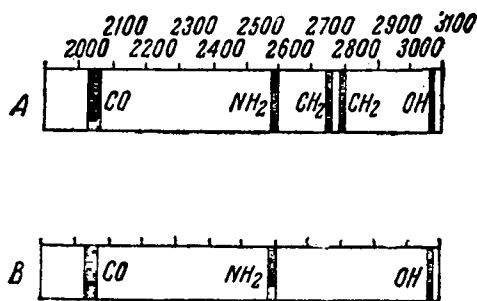


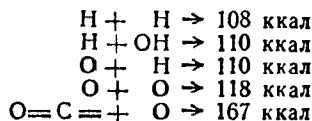
Рис. 7а. Эмиссионные спектры гликокола (А) и аланина (В).

Остается, однако, невыясненным, каким образом наблюдается излучение радикалов, т. е. из каких источников берется энергия их возбуждения.

Мы напомним, что при излучении обычных ферментативных процессов наличие радикалов может быть обнаружено лишь путем их резонансного возбуждения посторонним источником.

Так как единственным источником энергии в данном случае могут быть лишь рекомбинации радикалов, то приходится допустить, что при условиях опыта в достаточном количестве случаев осуществляются тройные столкновения радикалов, причем рекомбинация двух из них дает энергию для возбуждения третьего. Такими радикалами могут быть Н, О, ОН, С, =С, =О.

Теплоты их рекомбинации следующие:



¹ В самое последнее время Малеевой подтверждены все данные Шершнева при обогащении уреазы.

Мы видим, что при наличии всех перечисленных радикалов, кроме С или $=\text{CO}$, энергия рекомбинации достаточна только для возбуждения приблизительно до 2400 \AA .

Все обнаруженные Шершневым радикалы уместаются в более длинноволновой области, за исключением карбонильной группы, спектр которой $2030 - 2040 \text{ \AA}$, требует затраты приблизительно 140 ккал. Эта высокая энергия может быть получена лишь от рекомбинации $\text{C} + \text{O}$, причем речь может идти о $=\text{C} =$, или о $=\text{CO}$.

Расчет энергетического баланса должен поэтому прежде всего удовлетворить этим предпосылкам, т. е. наличию перечисленных только что радикалов. Мы введем в наш расчет во всех случаях видимый свет, который, как было указано, является необходимой предпосылкой, и, кроме того, сравним соотношения аэробных и анаэробных условий.

Мы предположим, что от молекулы гликокола $\text{CH}_2-\text{NH}_2-\text{COOH}$ отщепляются:

- | | |
|--|----------------|
| 1) 2H | $= - 186$ ккал |
| 2) NH_2 | $= - 60$ ккал |
| 3) OH | $= - 80$ ккал |
| 4) $\text{C} - \text{C} \rightarrow \text{C} + \text{C}$ | $= - 71$ ккал |

Кроме этого, при аэробных условиях предполагается расщепление O_2 :

$$5) \text{O}_2 \rightarrow \text{O} + \text{O} - 118 \text{ ккал; с у м м а: } - 515 \text{ ккал.}$$

Свободные радикалы: $=\text{C} =$, NH_2 , H , H , OH , O , O , $=\text{C} =$, O .

Из них потребляются по рекомбинации: 1) $\text{NH}_2 + \text{H} = \text{NH}_3 + 90$ ккал; 2) $\text{H} + \text{OH} = \text{H}_2\text{O} + 110$ ккал; 3) $=\text{C} = + \text{O} \rightarrow =\text{CO} + 167$ ккал. Кроме того, предполагается участие двух фотонов порядка 70 ккал (4100 \AA); 4) 2 фотона по 70 ккал $= 140$ ккал. С у м м а: $+ 507$ ккал.

Энергетический баланс при этом, как мы видим, приблизительно соблюден, и остаются свободные радикалы: $2\text{CO} =$ и 2O , могущие вступить в рекомбинацию. При этом энергия одного акта, равная 167 ккал, с избытком покрывает затрату на возбуждение самой коротковолновой линии митогенетического спектра, равной 1900 \AA (150 ккал).

Энергетическая схема значительно упрощается в анаэробных условиях.

Достаточно предположить отщепление: $\text{C} - \text{H} = -93$ ккал; $\text{C} - \text{OH} = -80$ ккал; $\text{C} - \text{C} = -71$ ккал.

При этом покрытие энергии может совершиться, помимо приблизительно 140 ккал, от двух фотонов видимого света, за счет так называемого «свертывания» двух свободных валентностей карбонильной группы $=\text{CO}$, т. е. ее превращения в CO . Этот процесс связан с выделением приблизительно 120 ккал, и, таким образом, приходный баланс, равный 252 ккал, покрывает затрату на отщепление радикалов, равную $- 244$ ккал. При этом остаются свободные радикалы H и OH , рекомбинация которых дает 110 ккал.

Таким образом, мы исходим при наших расчетах из двух предположений

В присутствии фермента энергия двух фотонов фиолетового света ($4100 - 4300 \text{ \AA}$), достаточная для отрыва от молекулы аминокислоты радикалов CH_2 , NH_2 , $\text{CO} =$, OH , флюоресценция которых в ультрафиолете может быть обнаружена в возбужденном состоянии. Энергия их возбуждения покрывается при условиях опыта рекомбинацией радикалов H , OH , O , $\text{CO} =$, отщепление которых энергетически возможно при участии двух фотонов и (для последних двух) атмосферного кислорода.

Наши основные положения доступны экспериментальной проверке; участие двух фотонов определенной предельной величины в одном элементарном акте и вероятность тройных столкновений радикалов удаётся установить путем варьирования интенсивности света и концентрации раствора.

При постоянстве концентрации раствора интенсивность излучения в процессе созревания изменяется в квадратической зависимости от интенсивности света, что указывает на участие двух фотонов. Мы видели также, что из энергетического баланса вытекает необходимость подсвечивания фотонами не меньше

66 ккал (4 300 Å), и этот вывод находит экспериментальное подтверждение: зеленый свет 5 000 Å, равный 56 ккал, появления возбужденных радикалов уже не вызывает.

Что касается постулата тройных столкновений радикалов, то экспериментальную проверку проще всего проводить путем варьирования концентрации раствора аминокислоты при постоянном световом режиме. Зависимость между интенсивностью излучения и концентрацией должна здесь во всяком случае превышать квадратическую форму, хотя, конечно, трудно рассчитывать на строгое соблюдение кубической зависимости, требуемой теорией. Экспериментальные данные в этих случаях менее определены, чем в предыдущих опытах, но во всяком случае ясно указывают на превышение квадратической зависимости.

Экспериментальной проверке доступны и дальнейшие положения: излучение в анаэробных условиях должно ограничиваться, согласно энергетическим уравнениям, в коротковолновую сторону областью, соответствующей приблизительно 110 ккал, т. е. 2 580 Å.

Испытание излучения при обогащении в анаэробных условиях дает результаты, очень близкие к ожидаемым: из общего набора полос, найденных Шершневым в аэробных условиях, выпадает лишь одна 2 030—2 040, соответствующая карбонильной группе (равной 142 ккал)¹.

Образование радикалов и их возбуждение при комбинированном действии фермента, фотонов и кислорода представляются на основании всех приведенных данных энергетически достаточно выясненными. Другими словами, показано, что эти процессы энергетически возможны.

Но вполне понятно, что действительный ход процессов, в особенности характер участия фермента, этими исследованиями выясняется так же мало, как и реальный ход расщепления адекватных субстратов ферментами на основании методов и соображений классической ферментологии.

Что касается второго акта обогащения, а именно синтеза молекул ферментов, то в настоящее время нет никаких экспериментальных данных, которые позволили бы конкретизировать наши представления.

Важно, однако, отметить следующее. Если исходить из того, что содержащиеся в гликоколе радикалы достаточны для построения при участии атмосферного кислорода и воды различных ферментов, то приходится, конечно, принять во внимание следующее: соотношения между количеством свободных групп SH_2 , NH_2 , COOH , соответствующие гликоколу, не могут, конечно, сохраняться при построении сложных и разнообразных пептидов, которыми, как мы предполагаем, являются ферментовиды. Несомненно, что аминокруппы и карбоксильные группы окажутся при этом в большом избытке. (Схематически можно представить себе синтез ферментовидов из двух основных этапов: образования самых различных аминокислот и формирования между ними пептидных связей. Первый этап — образование более сложной аминокислоты за счет содержащихся в гликоколе радикалов — по своему энергетическому балансу приблизительно термонеutralный процесс, т. е. не требует затраты энергии и независим от наличия O_2 .

¹ Оперируя с представлением о рекомбинации радикалов, мы имеем в виду их использование в процессе синтеза ферментовидов.

Если же, кроме того, принять образование из остаточных групп NH_2 и COOH при участии O_2 и воды, NH_3 и CO_2 , то и здесь, как показывает расчет, не затрачивается, а скорее освобождается некоторое количество энергии.

Однако образование пептидных связей требует, как мы видели, значительной энергии для старта процесса в случае его цепного характера. При образовании ферментоидов источником энергии является, повидимому, излучение самой системы.

Чрезвычайно важен, однако, для возможного дальнейшего анализа установленный Шершневым факт зависимости процессов синтеза от излучения системы.

Зависимость эта вытекает не только из полного параллелизма между исчезновением излучения и обогащения в темноте. Синтез ферментоидов отсутствует и на свету в том случае, если сопровождающее процесс излучение системы подавлено тушителем.

Ввиду того что в дальнейшем действие ферментоида на адекватный субстрат обнаруживается в свою очередь появляющимся при этом излучением, необходимо, конечно, при этом специальный прием: к системе фермент + аминокислота прибавляется гидролизованный тушитель, который не обогащается за счет аминокислот и поэтому в последующих переносах при достаточном разбавлении не обнаруживает больше своего угнетающего действия. Однако легко с достоверностью показать, что процесс синтеза немедленно и, повидимому, нацело прекращается при прибавлении тушителя, т. е. что и в дальнейших переносах следы ферментоида уже не могут быть обнаружены.

Так как, согласно нашим представлениям, тушитель связывается с радикалами, то объяснение его угнетающего действия на процессы синтеза можно было бы искать именно в этих процессах.

Однако с этим несовместимы дальнейшие данные Шершнева: при одновременном облучении системы, к которой прибавлен тушитель, процессы синтеза протекают нормально. При этом контрольными опытами устанавливается, что тушитель, по крайней мере от применяемых доз облучения, не разрушается.

Получается, таким образом, впечатление, что наличие излучения является необходимой предпосылкой для синтеза ферментоида из радикалов.

Это, впрочем, и понятно, если принять во внимание роль фотонов при процессе конденсации пептидов. Правда, этот сравнительно прозрачный и простой процесс является лишь крайне примитивной моделью или аналогией для гораздо более сложных процессов синтеза специфического каждый раз ферментоида из одних и тех же радикалов.

Было бы преждевременным высказывать какие-либо предположения по этому чрезвычайно сложному и недостаточно выясненному вопросу.

Нам остается теперь отдать себе отчет в том, насколько проанализированные нами факты приближают нас к пониманию природы ферментов и их действия на субстраты.

...мы можем подойти к вопросу с нескольких сторон.

Во-первых, мы убедились на примере ферментоида дезаминазы, что сам факт возникновения в субстрате свободных радикалов может привести при участии атмосферного кислорода к реакциям, химически совпадающим с воздействием на тот же субстрат непосредственно ферментов. Этот факт зарождает естественным образом мысль о том, что и в классических процессах (в частности, гидролиза) ферментативное расщепление совершается через промежуточное звено отщепления от молекул субстрата отдельных радикалов. Это положение находит непосредственное экспериментальное подтверждение, о котором была уже речь в главе первой.

Путем метода селективного рассеяния удалось обнаружить в системах белок + пепсин и зимаза + глюкоза наличие ряда радикалов, отсутствовавших в каждом из двух слагаемых, т. е. ферменте и субстрате, взятых порознь. Ввиду важности вопроса мы приводим здесь выдержки из протоколов.

Обнаружение радикала NH_2

Подсвечивание полосой 2 520—2 540 Å	Эффект в %
1) Раствор белка без прибавления желудочного сока	10
2) То же с желудочным соком в отношении 1:10 . . .	62
3) То же без подсвечивания	2

Определение карбонильной группы

Подсвечивание полосой	Эффект в %
2 020 — 2 040 Å	50
То же 2 000 — 2 010 Å	0
» » 2 050 — 2 060 Å	3

Таким образом, мы видим, что митогенетический анализ, т. е. новый, не применявшийся до сих пор метод, вскрыл неизвестный до сих пор основной важности этап нормальной ферментативной деятельности. Но эти данные еще сами по себе несколько не указывают на участие митогенетического режима во всем жизненном цикле молекулы фермента.

Однако решающее значение фотон в образовании ферментоидов из аминокислот делает вполне законным и естественным предположение, что аналогичные по существу процессы имеют место при образовании молекул фермента в клетках.

Дальше этого предположения мы в настоящую минуту пойти не можем, но нельзя не указать на то, что энзимология не дает до настоящего времени даже самого отдаленного подхода к выяснению механизма возникновения ферментов в живых системах.

РЕАКЦИИ, СОПРОВОЖДАЮЩИЕСЯ ИЗЛУЧЕНИЕМ

Мы имеем все основания предполагать, что при всех реакциях этой категории воздействие облучения приводит к процессам фотодиссоциации. При этом при специальном подборе для каждого данного облучаемого вещества подходящей длины волны облучения реакция субстрата, наряду с фотодиссоциацией, сопровождается и излучением, которое мы обозначаем как вторичное.

Специальное, ограничительное условие, при котором появляется вторичное излучение, состоит в следующем.

Длина волны, применяемая для облучения, должна совпадать с какой-нибудь из полос спектра флюоресценции данного вещества, возникающей при иных обстоятельствах (например, если данное вещество является субстратом ферментативной реакции или при «сенсibilизованной» флюоресценции).

Таким образом, мы можем говорить о принципе, аналогичном резонансу, проявляющемся во вторичном излучении. Этот принцип сохраняет, впрочем, свою полную силу лишь при слабых интенсивностях облучения, порядка митогенетических. Судя по некоторым, правда, еще недостаточным данным, при облучении физическими источниками можно добиться вторичного излучения типичного для данного вещества спектрального состава и при облучении нерезонансными длинами волн.

Метод обнаружения вторичного излучения основан на некоторых специальных предпосылках.

Необходимо иметь в виду, что биологические детекторы являются всегда в то же время и излучателями. Поэтому, пользуясь ими, мы как будто лишены возможности противопоставить опыт с облучением испытуемого вещества такому же опыту без его облучения, так как облучение имеет место во всяком случае. Другими словами, на первый взгляд как будто нет возможности решить, излучает ли испытуемое вещество в данном случае первично или вторично. Однозначный ответ становится, однако, возможным вследствие следующих обстоятельств.

1. Вторичное излучение обнаруживается при помощи биологических детекторов лишь при условии прерывистой подачи облучения.

2. Между моментом облучения и вспышкой вторичного излучения обнаруживается латентный период возбуждения (период индукции) порядка 0,001 секунды.

3. Вторичное излучение распространяется с конечной скоростью по всему объему облучаемого субстрата.

Эти три момента вытекают из экспериментальных данных с применением облучения через вращающийся диск с секторальными вырезами. Мы можем сопоставить излучение двух растворов глюкозы: одного при прибавлении адекватного фермента, другого без фермента. Детектор (дрожжевой блок) обнаруживает в пер-

вом случае эффект как без применения вращающегося диска с секториальными вырезами, так и с ним, причем при любой ширине щелей, в любом ритме.

Результаты во втором случае существенно другие.

Дрожжевой блок, расположенный перед раствором глюкозы без промежуточного вращающегося диска, вообще не обнаруживает эффекта по сравнению с контрольным блоком. При включении секториального диска эффект обнаруживается исключительно при вполне определенном угловом раскрытии щелей и зубцов между ними (предполагая, конечно, определенную постоянную скорость вращения диска).

При этом безразлично, идет ли речь лишь о двух или о нескольких щелях, приходится лишь соблюдать различные времена экспозиции. Наиболее instructивен следующий вариант опытной установки.

Диск снабжается двумя расположенными по ющей периферии щелями, по 10° каждая, и с промежутком также в 10° . Перед щелями ставится дрожжевой блок, позади диска — 5% раствор глюкозы. Эффект при соответственной экспозиции всегда положительный. При сохранении того же углового раскрытия обеих щелей, но увеличении промежутка между ними вдвое, эффект получается всегда нулевой. Опыты эти предполагают, конечно, постоянную скорость вращения (трехфазный мотор с 1500 оборотами в минуту).

Толкование результатов следующее.

При прохождении передней (по направлению вращения) щели несколько фотонов из дрожжевого блока попадают в раствор глюкозы и вызывают здесь реакцию, латентный период и длительность которой порядка 0,001 секунды, т. е. приблизительно соответствует прохождению экранирующего промежутка в 10° . При прохождении второй щели, т. е. за промежуток времени между 0,001 и 0,002 секунды, после закрытия первой щели, вспышка вторичного излучения, возникшая в глюкозе в течение 0,001 секунды, может попасть на детектор. Если же экранирующий промежуток равен 0,002 секунды, то вспышка уже закончилась к моменту прохождения второй щели и не повлияла на детектор. В то же время, если экранирующий промежуток между щелями слишком мал, вторая щель проходит, когда вспышка еще не появилась или, что вероятнее, не достигла своего максимума.

Этими опытами с полной ясностью устанавливаются различия между так называемым первичным и вторичным излучением, приблизительно длительность латентного периода и вспышки вторичного излучения.

Совершенно не затрагивается ими вопрос о причинах необходимости фракционированного облучения или, выражаясь по-другому, темновых периодов.

Чисто физические данные о вторичном излучении дополняются явлениями его распространения по субстрату.

Скорость распространения на короткие расстояния (до 6—7 см) была определена уже несколько лет назад: для растворов глюкозы она равна при обычных температурных условиях 30 м/сек., с ошибкой в 10%.

За последнее время Зысиным получены очень близкие к этим величины (около 32 м/сек.) для расстояний порядка до 1 м. Из этого мы можем заключить, что скорость распространения постоянна.

Метод определения основан на испытании углового расстояния между двумя щелями, необходимого для получения эффекта. При этом, однако, щели расположены уже не на общей периферии, а на определенном расстоянии друг от друга по радиусу. При этом исходят из следующего простого расчета.

Если при двух щелях на общем круге (без проведения) подходящее расстояние экранирующего участка равно 10° (т. е. 0,001 секунды), то при радиальном расстоянии щелей в N см подходящее угловое отверстие экранирующего участка будет определяться временем $0,001^2$ секунды + N/x секунд, где x — еще неизвестная скорость. Зная угловую скорость вращения диска, мы можем, конечно, перевести время на угловое расстояние.

Точность определения скорости зависит, помимо равномерности хода мотора, и от величины подающей и приемной щелей. В этом отношении данные Зысина заслуживают особого внимания, так как он работал с ничтожными щелями, порядка 1×1 мм.

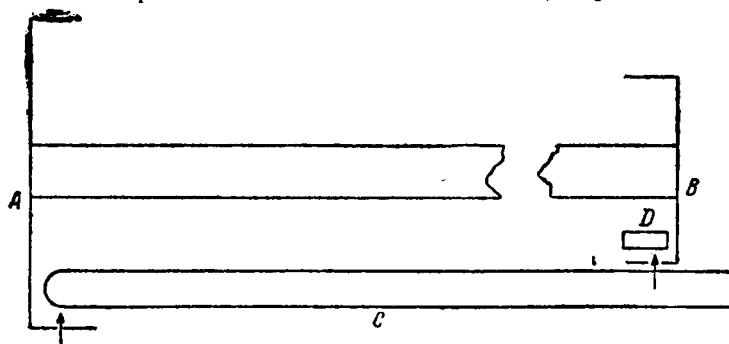


Рис. 8. Схема аппарата для изучения вторичного излучения на расстоянии до 1 м (по Зысину).

A — диск, не затрещанный в определенном положении на оси и допускающий любую угловую установку; B — диск, скользящий вдоль оси и вращающийся только вместе с осью; C — кварцевая трубка (стрелками указано направление облучения (слева) и вторичного излучения (справа)); D — детектор.

Для измерения скорости распространения излучения на расстояниях до 1 м Зысиным сконструирован следующий аппарат (рис. 8).

На оси, вращаемой «синхронным» мотором (1 500 об/мин.), насажено два металлических диска неравной величины (12 и 8 см ра-

¹ Мы округляем эту величину, в действительности она будет равна 1/900 секунды.

диуса), снабженные цилиндрическими ободками вышиной около 4 см. Один из дисков закреплен, другой может передвигаться по оси. Подвижной диск насажен таким образом, что выступ около его оси скользит в продольном желобке оси, что устраняет возможность вращения диска. Наоборот, неподвижный по направлению оси диск может вращаться вокруг нее.

Таким образом, аппарат позволяет с достаточной степенью точности варьировать как угловое расстояние между щелями, расположенными на ободках обоих дисков, так и их линейное расстояние по общей оси.

Кварцевая труба, заполненная раствором глюкозы, располагается внутри от большего и снаружи от меньшего диска. Через щель первого подается облучение (снаружи от блока), детектор расположен внутри ободка меньшего диска, против щели на ободке. Легко показать, что угловое расстояние между щелями обоих ободков нарастает пропорционально их расстоянию по оси (постоянная скорость распространения) и что порог экспозиции снижается по мере удлинения расстояния между ними. Из последнего факта вытекает зависимость интенсивности вторичного излучения как функции от расстояния, пройденного волной возбуждения.

Зысин, работая с трубой диаметром около 4 см, установил заметный инкремент интенсивности излучения по мере отдаления от места облучения: инкремент вначале очень крутой, заметный перелом крутизны наблюдается приблизительно на расстоянии нескольких десятков сантиметров, но ощутим еще на расстоянии до 6 м от места облучения. Данные автора не позволяют, однако, установить аналитический характер полученной кривой, т. е. количественное выражение для хода инкремента.

Заметное повышение интенсивности вторичного излучения в зависимости от пройденного пути обнаружено А. И. Рабинерсон и Е. С. Биллиг и на растворах белка, на расстояниях, не превышающих 20 см. Наряду с этим известны случаи и декремента вторичного излучения, например, в желатиновых железах.

Сам факт распространения вторичного излучения и тем более инкремент интенсивностей указывают на то, что мы имеем дело с разветвляющейся цепной реакцией.

Как известно, распространение таких реакций тесно связано с конфигурацией и объемом сосуда, в котором они протекают, так как акт передачи энергии от одной возбужденной частицы (атома или молекулы) к другой, лежащей в основе «цепи», приводит к обрыву последней каждый раз, когда возбужденная молекула наталкивается на стенку сосуда. Ввиду этого можно было ожидать очень крутого декремента, т. е. фактического отсутствия проводимости вторичного излучения в очень узких капиллярах, с просветом порядка дробных частей миллиметра. Опыты А. А. Гурвич показали, что это действительно так. Но при искусственной ориентировке молекул проводимость при этих условиях возможна. Автор исходил из соображения, что длинные молекулы слегка денатурированного белка в электрическом поле будут ориентироваться в пристеночном слое своими осями преимущественно по направлению поля, т. е. параллельно друг другу. Это может создать более благоприятные условия для передачи возбуждения и уменьшит вероятность обрыва цепей на стенах. Действительно, в поле порядка 100/V, см можно добиться прохождения вторичного излучения в тех же капиллярах (длиной 6 см).

Того же эффекта удалось достигнуть и более однозначным путем, пропуская раствор белка через капиллярную трубку со скоростью порядка 1 м/сек.

Предположение, что существенным моментом успеха в этих опытах является величина и форма молекул, обуславливающая возможность их ориентировки, находит подтверждение в том, что повторение тех же приемов на растворах глюкозы не дает положительных результатов.

Анализ описанных нами явлений наталкивается на чрезвычайные трудности, и вообще можно сказать, что вторичное излучение является одной из наиболее темных проблем всей области.

Мы в состоянии в настоящее время выставить лишь несколько общих положений, являющихся непосредственными выводами из экспериментальных данных.

Мы различаем при этом преимущественно химические вопросы от чисто физических.

Все изученные до сих пор в смысле вторичного излучения вещества в химическом отношении (более или менее неустойчивы (в особенности при сохранении их на свету).

Так, например, глюкоза, мочеви́на, нуклеиновая кислота, белок в растворах при хранении на свету и на воздухе сохраняют свою способность к вторичному излучению уже в течение нескольких часов. В полной темноте они годны к употреблению еще через сутки. Наряду с этим более устойчивые в химическом отношении углеводы — сахароза, мальтоза, галактоза — не обнаружили до сих пор способности к вторичному излучению.

Из неорганических соединений вторичное излучение обнаружено с достоверностью лишь на пятиокиси ванадия (V_2O_5) в коллоидальном растворе (Рабинерсон и Биллит). Известная степень неустойчивости, например, переход при известных обстоятельствах из пятивалентного в четырехвалентное состояние, присуща и этому соединению.

Имеются основания предполагать, что химические изменения всех перечисленных веществ при их хранении на свету наступают в несравненно более быстром темпе при их митогенетическом облучении. Мы можем это вывести из очень быстрой «утомляемости» этих растворов в смысле вторичного излучения: как правило, после 15—20-минутного облучения обычными интенсивностями раствор уже становится негодным для дальнейших опытов.

Мало того, этот утомленный раствор обладает свойствами гасителя по отношению к свежеприготовленным: так, например, утомленный 5% раствор глюкозы нацело гасит вторичное излучение свежего еще в отношении 1:100.

Совершенно тот же эффект гашения наблюдается и при прибавлении тех растворов, которые пришли в негодность от хранения на свету. Из этого мы вправе сделать вывод, что там и здесь

мы имеем дело с одинаковыми химическими изменениями растворов.

Подавление излучения в разбираемых нами случаях имеет характер «гашения», которое мы противопоставляем «тушению».

Различия между двумя методами подавления излучения очень существенны.

«Тушители» не подавляют вторичного излучения и прозрачны для митогенетической области ультрафиолетового излучения. Из первого факта мы можем сделать очень важный вывод относительно основ химических изменений при вторичном излучении.

Изменения молекул субстрата при поглощении фотонов, по видимому, не доходят до образования свободных радикалов, способных к рекомбинации и освобождающих при этом энергию, дающую вторичное излучение. В противном случае тушитель должен был бы оказывать при вторичном излучении такое же угнетающее действие, как и при ферментативном разложении.

Этот вывод подтверждается и тем, что в эмиссионном спектре вторичного излучения органических веществ отсутствует полоса гидроксила, входящая в состав излучения тех же веществ при их ферментативном разложении.

Образующиеся при облучении гасители являются, таким образом, судя по всему, не особенно глубокими продуктами фотодиссоциации. По видимому, они представляют не единственные продукты этого процесса. Это предположение напрашивается ввиду совершенно не выясненной до сих пор причины необходимости прерывистой подачи облучения для получения вторичного излучения. Хотя удовлетворительное объяснение этого явления до сих пор еще не удалось, однако, естественнее всего предположить, что необходимость «темновых» пауз при облучении обусловлена тем, что в эти промежутки времени совершаются быстро протекающие обратимые процессы, замедляющие накопление гасителя.

В противоположность довольно удовлетворительному разрешению вопроса об энергетических источниках излучения при химических реакциях для вторичного излучения этот основной вопрос остается совершенно невыясненным. Мы видели уже, что наши предварительные выводы скорее отрицательного характера, так как приводят к тому, что глубокие химические процессы, могущие явиться достаточным источником энергии, по видимому, здесь отсутствуют.

Вместе с тем сам факт вторичного излучения, т. е. отдачи фотона, эквивалентен обрыву цепи. Если, несмотря на это, вторичное излучение не только не затухает, но распространяется на неограниченные расстояния, притом с заметным инкрементом, то из этого с необходимостью вытекает, что в субстрате протекает разветвляющаяся цепная реакция, при которой в определенных

точках (центрах), поглощающих один квант энергии, соответствующий ультрафиолетовому фотону, возникают процессы, в результате которых выделяется энергия, соответствующая двум фотонам такой же величины. При этом в дальнейшем мыслимы следующие возможности.

1. Оба кванта высвечиваются в виде фотонов, при этом один из фотонов сохраняется в самой системе и, будучи поглощен молекулой субстрата, вызывает новый, идентичный процесс возбуждения, т. е. является основой для распространения реакции. Второй фотон выступает за пределы системы и может быть обнаружен детектором в виде «вторичного» излучения.

2. Оба фотона остаются в системе или оба отдаются наружу.

3. Один (или оба) квант энергии не высвечивает ее, но поглощается путем ударов второго рода молекулами субстрата, возбуждая их соответственным образом, причем это возбуждение может в свою очередь привести к различным результатам: отдаче энергии в виде фотона, ее рассеянию или передаче дальше ударом второго рода.

Для вторичного излучения глюкозы удается создать чисто гипотетическую схему разветвляющейся цепной реакции, вполне удовлетворительную в энергетическом отношении и дающую возможность некоторой экспериментальной проверки.

Фотон не меньше 142 ккал ($2\ 000\ \text{Å}$) разрывает гексозу на две триозы. В присутствии O_2 каждая из них распадается в свою очередь на молекулу муравьиной и уксусной кислоты (первая с присоединением O). При этом освобождается за счет каждой триозы (за вычетом затраты энергии на расщепление одной молекулы O_2 по расчету на обе триозы) приблизительно 105 ккал, т. е. энергия, не достаточная для возбуждения молекулы глюкозы. Вторичное излучение может поэтому идти лишь при участии добавочной энергии не меньше 45 ккал, так как наиболее коротковолновая полоса спектра флуоресценции глюкозы равна $1\ 900\ \text{Å}$ (150 ккал). 45 ккал соответствуют $6\ 300\ \text{Å}$ (красный свет). Опыт вполне подтверждает последний вывод. Вторичное излучение глюкозы, в противоположность ее флуоресценции при ферментативном расщеплении, не появляется при полном затемнении и достигает своей обычной интенсивности на красном свегу.

Большой теоретический интерес для понимания основных биологических процессов представляют связанные с митогенетическим излучением явления на монофильмах из различных веществ, выясненные работами А. А. Гурвич, Брауна, Энгеля и Четверикова.

Среди многочисленных исследованных веществ можно отметить две категории: не реагирующих на митогенетическое облучение и отвечающих на него вторичным излучением.

Фильмы из веществ первой категории на целю снимают митогенетический эффект и оказываются при этом очень стойкими даже при сравнительно длительном облучении. Монофильмы, обнаруживающие при облучении вторичное излучение, вместе с тем довольно быстро разрушаются.

Из первой категории исследованы монофильмы из кедрового масла (А. А. Гурвич и Ф. Энгель) и анилида стеариновой кислоты (Четвериков). О степени непрозрачности можно судить по следующей постановке опытов.

Круглое отверстие в дне кристаллизатора заклеивается кварцевым окном, под которым располагается детектор, облучаемый вначале через слой воды, налитой в кристаллизатор (контроль), а в дальнейшем и через монофильм, нанесенный на воду.

В серии из 10 опытов авторы получили: без фильма 25% (средняя величина), с фильмом из кедрового масла 0,8%.

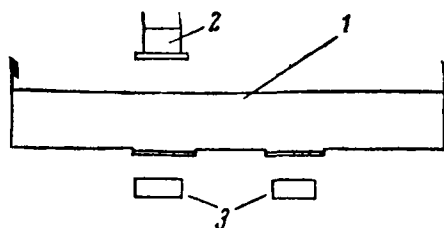


Рис. 9. Кристаллизатор с двумя кварцевыми окнами.

1 — слой воды с нанесенным на нее монофильмом;
2 — сосуд с излучающей системой (с кварцевым дном); 3 — детекторы.

Четвериков убедился, что монофильм из анилида стеариновой кислоты остается незатронутым, т. е. непрозрачным, после часового облучения наиболее мощным митогенетическим источником. Это вещество представляет особый интерес ввиду исследований Митчелла (Mitchell), показавшего, что при облучении фильма ультрафиолетом обычной мощности физических источников разрывается пептидная связь — $\text{CO}-\text{NH}$ — с выходом 1 : 1, т. е. без цепной реакции. Эти данные, конечно, исключают возможность серьезного повреждения фильма митогенетическими интенсивностями.

Совершенно иные явления наблюдаются на монофильмах из лецитина, касторового масла, триолеина и холестерина, обнаруживающих вторичное излучение.

Вторичное излучение связано с довольно быстрым разрушением фильма при облучении. Оба явления можно объяснить лишь тем, что поглощение фотона вызывает здесь цепную реакцию, распространяющуюся по фильму, т. е. отсутствием соответствия между количеством поглощенных фотонов и диссоциированных, выступающих из строя молекул.

Сравнительно быстрое разрушение фильма на месте облучения обнаруживается следующим способом.

Берется кристаллизатор, снабженный двумя кварцевыми окнами, отстоящими друг от друга на расстоянии 2,5 см (рис. 9). Источник излучения располагается над одним из окон, под которым расположен детектор, и производится короткое облучение (45 секунд) через подвергающийся исследованию монофильм.

После этого детектор удаляют и облучение продолжают еще 20 минут. Вслед за этим под окно устанавливается новый детектор, облучаемый в течение 45 секунд. После этого источник облучения переносят и устанавливают над вторым отверстием, под которым устанавливается новый детектор, и производят обычное облучение (45 секунд). Последняя процедура имеет целью показать, что фильм, не подвергавшийся длительному облучению, сохранился в целости в течение 20 минут и что, следовательно, явления, наблюдаемые на месте длительного облучения, представляют именно его следствие.

Результаты серии из 15 опытов сведены в таблице.

Эффект индукции через свежеприготовленный фильм из лецитина (45 секунд)	1%	(средняя из 15 опытов)
То же, испытание после непрерывного облучения в течение 20 минут	30%	
То же, испытание второго участка, не подвергшегося длительному облучению, через 25 минут после формирования фильма	1,5%	

Результаты последнего опыта указывают на то, что цепная реакция разрушения не распространяется далеко, так как не задевает участка, отстоящего на 2,5 см от места облучения.

Вторичное излучение разрушаемых монофильмов было непосредственно обнаружено Брауном, получившим положительные эффекты с лецитином, касторовым маслом, триолеином и холестерином. При этом он констатировал наличие принципа резонанса, т. е. появление вторичного излучения лишь в тех случаях, где в спектральном составе источника излучения заключалась хотя бы некоторые полосы собственного спектра флюоресценции вещества монофильма.

Поглощение митогенетического излучения монофильмами принадлежит к микроявлениям, неожиданным для классической физики. Для правильной оценки явления необходимо принять во внимание следующие обстоятельства.

1. Обнаружить хотя бы следы поглощения монофильмами, применяя обычные физические источники ультрафиолета, вряд ли возможно потому, что уже на основании сравнительно легкой разрушаемости монофильмов митогенетическими интенсивностями излучения можно с уверенностью сказать, что их разрушение несравненно более интенсивными источниками будет фактически моментальным.

2. Нет, конечно, никаких оснований принимать полное поглощение падающего света монофильмами. Испытание всегда производится из расчета на обычную необходимую длительность экспозиции, уменьшение же интенсивности наполовину потребовало бы удвоения длительности экспозиции.

Интересно, однако, привести в связи с разбираемым вопросом и следующий расчет.

Как показал Барт (Barth), насыщенный раствор трибутирина поглощает ультрафиолет нацело, начиная с 2250 \AA в слое 1 см (источник — спектрально разложенная алюминиевая искра, детектор — фотопластинка). Считая, что насыщенный раствор соответствует концентрации 10^{-5} и округляя молекулярный вес трибутирина до 800, мы должны принять в 1 см^3 10^{16} молекул. Вместе с тем 1 см^3 монофильма из трибутирина состоит приблизительно из $1,5 \cdot 10^{16}$ молекул (принимая «поперечное сечение» молекулы равным в диаметре 3 \AA). Таким образом, в данном случае можно себе представить все количество молекул, находившихся в толще раствора, достаточное для полного поглощения, как бы сконцентрированным в монофильме.

Приложения всех сообщенных здесь факторов к биологическим проблемам выяснятся из дальнейшего изложения.

ЧАСТЬ ВТОРАЯ

ОРГАНИЗОВАННЫЕ (ЖИВЫЕ) СИСТЕМЫ

ГЛАВА ПЯТАЯ

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МИТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭФФЕКТОВ В ОРГАНИЗОВАННЫХ СИСТЕМАХ

Вполне естественно было ожидать, что митогенетические явления в организованных (живых) системах гораздо более сложны и труднее поддаются анализу, чем в гомогенных системах (растворах или кристаллических телах).

Положение вещей еще нередко осложняется тем обстоятельством, что изучаемый (в смысле ли собственного излучения или воздействия на него облучения) биологический объект омывается растворами, обладающими способностью к вторичному излучению и вместе с тем поглощающими митогенетическое излучение. В этих случаях есть все основания предполагать, что изучаемое излучение не исходит непосредственно от живой системы, а является вторичным излучением смывающего раствора. При этом сразу возникает ряд труднейших для разрешения вопросов.

Во-первых, мы знаем, что резонансные спектры вторичного излучения растворов могут быть гораздо богаче возбуждающего их спектра.

Во-вторых, если омывающий раствор не содержит составных частей, способных резонировать на внутриклеточное излучение, последнее может оказаться вовсе не обнаруживаемым.

Вместе с тем следует отметить, что некоторые особенно интересные для митогенетического анализа системы, как, например, культуры бактерий и дрожжей, отличаются интенсивным экстрацеллюлярным метаболизмом: ряд ферментов выделяется ими в окружающую среду, представляющую для них адекватный субстрат, и вызывает в ней излучение. Наряду с этим мыслимо одновременно и вторичное излучение субстрата под влиянием излучения самих клеток. Мы приходим, таким образом, к парадоксальному на первый взгляд выводу, что излучение самих бактериальных или дрожжевых клеток в жидких питательных средах остается для нас недоступным.

Безупречными, на первый взгляд, в интересующем нас смысле являются поэтому лишь живые системы, клетки которых совершенно обнажены, т. е. прилегают непосредственно к воздуху или

нистой воде, как, например, яйца морских ежей и органы растений. Но и здесь возникает ряд обоснованных сомнений.

Такие объекты, как яйца морских ежей, окружены тончайшей пленкой, которая, с одной стороны, может обладать селективной абсорбцией для ультрафиолета, с другой стороны, способностью ко вторичному излучению.

В еще большей степени эти свойства можно предположить у целлюлозных оболочек растительных клеток.

Необходимо уяснить себе в дальнейшем (это ускользало долгое время и от нашего внимания), что, с одной стороны, чрезвычайно ничтожная интенсивность излучения, с другой — очень высокий коэффициент поглощения большинства органических веществ, в особенности белков, в области среднего ультрафиолета делают проблемой сам факт излучения из глубоких слоев клетки.

Действительно, как мы уже видели в главе четвертой, опытами А. А. Гурвич, Г. Энгеля, Брауна и Четверикова установлено, что монофильмы из ряда органических веществ в тех случаях, где они не излучают вторично, значительно поглощают ультрафиолет митогенетической интенсивности. Правда, как показали опыты А. А. Гурвич, при достаточно длительном (приблизительно получасовом) облучении монофильмы разрушаются. Однако Четвериковым показана гораздо большая устойчивость фильма из анилида старинной кислоты, в котором при облучении не возникает цепных реакций.

В то же время в живых системах, конечно, вполне естественно предположить наличие благоприятных условий для непрерывной регенерации фильмов при достаточно умеренном их облучении изнутри или извне¹.

Этот факт приводит нас на первый взгляд к крайне пессимистическому взгляду: излучение из глубины живых систем (клеток, волокон) для нас недостижимо.

Этот вывод, к счастью, нацело опровергается рядом совершенно однозначных фактов.

Мы имеем при этом в виду главным образом многочисленные и разнообразные наблюдения над зависимостью эмиссионных спектров мозговой коры и периферической нервной системы от их функционального состояния. Между тем предпосылки для получения специфических спектров здесь особенно благоприятны, так как, конечно, паутинная и мягкая оболочки мозговой коры и все соединительнотканые оболочки нервных стволов остаются на своих местах. Мало того, по пути излучения из осевого цилиндра (или аксоплазмы) при мыслимо благоприятных обстоятельствах всегда еще останутся шванновская и мягкотная оболочки, являющиеся очень значительными барьерами для ультрафиолета, например, по сравнению с монофильмом из холестерина

¹ Мы увидим в дальнейшем, что при чрезмерном облучении фильмы действительно нарушаются и в организованных (правда, лишь в переживающих) системах.

или лецитина. Мысль же о функциональных изменениях оболочек настолько невероятна, что вряд ли нуждается в обсуждении.

Не менее убедительны факты и из совсем иной области, приведенные в исследованиях Пономаревой над деградационным излучением печени кролика (глава шестая). Не говоря уже о собственном монофильном печеночной клетки, не следует забывать, что опыты производились, т. е. излучение улавливалось через довольно плотную глиссонову капсулу.

Вместе с тем приходится поражаться, насколько тонко и быстро реагируют эмиссионные спектры печени на введение под кожу ничтожных количеств некоторых веществ.

Таким образом, сам факт, что улавливается специфичность излучения из глубинных слоев живых систем, совершенно неопровержим, и остается лишь попытаться найти разгадку для нагроможденных нами же противоречий.

Некоторый свет на действительное положение вещей проливают исследования А. А. Гурвич.

По данным Брайнеса, Маринеско и ее собственным, не наблюдается существенных различий в излучении мозговой коры при сохранении или после удаления твердой мозговой оболочки (кролик). Этот довольно странный сам по себе факт находит свое объяснение в том, что оболочка по своему отношению к митогенетическому ультрафиолету ведет себя как прозрачная среда. Другими словами, хотя митогенетическое излучение, испускаемое оболочкой, поставленной перед источником излучения, есть в действительности, несомненно, вторичное излучение, оно до сих пор ни по одному свойству не отличается от того, что должно было бы иметь место в случае ее полной прозрачности.

Приходится признать приблизительно одинаковую интенсивность излучения без экранирования оболочкой или с ним; особенно замечательно, что при прохождении через оболочку сохраняется своеобразное топографическое распределение интенсивностей излучения по поверхности мозговой коры и нервов (максимумы и минимумы), характерное для излучения нервных элементов.

Другими словами, излучение мозговой оболочки во всяком случае не обладает основным, характерным для вторичного излучения гомогенных систем свойством — распространением от места облучения, иногда даже с некоторым инкрементом.

Возможно, что дальнейшие опыты, в особенности более точные определения интенсивностей падающего на оболочку и испускаемого ею излучения, и выяснят окончательно эти запутанные вопросы.

Мы будем пока исходить из правдоподобного предположения, что «оболочки» различных порядков проявляют очень своеобразное вторичное излучение, воспроизводящее хотя бы с некоторой точностью не только спектральный состав, но и топографическое распределение экранируемого ими излучения. Наши методы, однако, недостаточно чувствительны для обнаружения возможных искажений топографии. Это заключение находит подкрепление

в модельных опытах А. А. Гурвич. При облучении брыжейки лягушки отдельными полосами пептидного спектра в спектре вторичного излучения воспроизводилась лишь та же полоса, а не полный спектр, как во вторичном излучении однородных систем.

На твердой мозговой оболочке тем же автором проверена степень распространения вторичного излучения по пленке в случае «точечного» облучения. При облучении твердой мозговой оболочки кролика вторичное излучение ограничивается по существу местом облучения (узким пучком) и не распространяется по поверхности пленки.

В понятие «оболочек» мы должны, конечно, включить и монофильмы, существование которых необходимо предположить для всех живых систем. Такие монофильмы, несомненно, существенно отличаются от изучаемых обычно экспериментальным путем.

Несомненно, что уже независимо от старых представлений, развитых в свое время Гебером (Höber), Натансоном (Natansohn), Руландом (Ruhland) о гетерогенности, «шахматности» поверхностного фильма, наши экспериментальные данные на некоторых объектах определенно указывают на высокую гетерогенность монофильма. Мы увидим неизбежность допущения, что монофильм, покрывающий, например, раковую клетку, составлен из ряда различных видов молекул — нескольких ферментов, так называемого тушителя и т. д. Правда, мы имеем здесь дело с совершенно специальным объектом, так как, по крайней мере в норме, ферменты в поверхностном фильме физиологических систем отсутствуют.

Если принять высокую степень гетерогенности (или «шахматности») монофильмов, покрывающих живые системы, то легче примириться и с тем, что распространение вторичного излучения в случае «точечного» облучения очень незначительно. Этот вопрос возникает, впрочем, перед нами лишь в области макроскопических размеров — при изучении топографического распределения излучения в центральной и периферической нервной системе, где речь идет о максимумах и минимумах («периодах») порядка 1,5—2 мм. Было бы, конечно, нелепо распространять требование «конформного» отображения топографии излучения на монофильме и на клеточные размеры.

В результате всех этих соображений мы приходим к следующему выводу.

Даже оставив в стороне истинные, порой макроскопические оболочки большинства живых систем, т. е. в случае совершенно «обнаженных» клеток, их митогенетический режим определяется по существу свойствами покрывающего их монофильма. Под «режимом» мы в равной степени понимаем все митогенетические явления, обусловленные как излучением самой клетки, так и ее реакциями на облучение.

В первую очередь в тех или иных свойствах монофильмов мы должны искать один из факторов, объясняющих совершенно непонятный на первый взгляд факт отсутствия физиологического

излучения многих тканей и органов с особенно интенсивным метаболизмом.

Из модельных опытов нам известны случаи полного поглощения митогенетического излучения монофильмами (анилид стеариновой кислоты по Четверикову и кедровое масло по А. А. Гурвич и Ф. Энгель) и наряду с этим вторичное излучение ряда других (лецитин, холестерин, нейтральные жиры).

Было бы, однако, необоснованным рассматривать монофильмы как единственный решающий фактор, определяющий наличие или отсутствие излучения данной системы. Против этого говорят как экспериментальные данные, так и некоторые априорные соображения.

Первые (мы можем почерпнуть из явлений так называемого «деградационного» излучения.

Все испытанные до сих пор ткани и органы обнаруживают излучение в момент охлаждения (или при пропускании токов ничтожной интенсивности) независимо от того, как они ведут себя без экспериментального воздействия.

Предположение, что это явление можно свести на нарушение целостности фильма, наталкивается на столько затруднений, что от него приходится отказаться или по крайней мере его нельзя признать вероятным.

К этому важному вопросу приходится подходить более общей и многосторонней точки зрения.

Мы должны поставить себе два вопроса.

Во-первых, все ли акты метаболизма обязательно связаны с излучением?

Во-вторых, являются ли монофильмы единственными клеточными органами, способными поглотить излучение?

На оба эти вопроса можно в настоящее время дать лишь отрицательный ответ.

Относительно первого мы напомним, что далеко не все органические соединения являются флуоресцентами. Наоборот, относительно ряда высокомолекулярных веществ, являющихся главными слагаемыми клеточного тела, можно утверждать обратное. Более того, даже флуоресценты вроде глюкозы излучают, видимо, лишь в «свободном» состоянии.

Помимо этого, развитые нами общие и крайне схематизированные представления о физико-химических основах и энергетическом балансе при возникновении ультрафиолетовой люминисценции при ферментативных реакциях, нуждаются, конечно, в дальнейшем развитии для применения к конкретным механизмам возникновения излучения в живых системах.

До выяснения физико-химических предпосылок митогенетического излучения мы склонны были сводить случаи его отсутствия на наличие тех или иных светофильтров (гасителей) в самой протоплазме или в поверхностных монофильмах клеток. Однако искусственность такого допущения выяснялась с течением време-

ни все больше, и от этой гипотезы пришлось, в конце концов, отказаться.

Мы окажемся, быть может, ближе к истине при следующих представлениях.

Излучение обнаружено нами лишь при деятельности ферментов одного определенного типа, приводящей к гидролизу. В энергетическом отношении процесс гидролиза практически термонейтрален, т. е. освобождающаяся или поглощаемая при нем энергия не превышает нескольких килокалорий.

Непрерывное, связанное с жизнью освобождение энергии зависит от окислительных процессов также ферментативного характера, причем в большинстве случаев окислению подвергаются продукты предшествующего гидролиза.

Из этого сопоставления вытекает, что непрерывность деятельности должна быть постулирована лишь для второй группы ферментативных процессов, являющихся поставщиками энергии. Но вместе с тем легко себе представить, что сам акт окисления может совершаться даже в присутствии видимого света и без образования свободных радикалов. Другими словами, нет необходимости в экстраполяции митогенетических данных, полученных на группе гидролизующих ферментов, на все, в том числе и на окислительные процессы. При этом следует принять во внимание, что общая теплотность процессов полного сгорания углеводов, жиров и белков (пептидов), конечно, настолько велика, что может свободно покрыть затрату при возбуждении ультрафиолетовых фотонов. Однако, вследствие многоступенчатости процессов окислительного распада в условиях живых систем, ни при одном этапе не выделяется энергия, хотя бы отдаленно приближающаяся к эквиваленту ультрафиолета. Поэтому легко понять, что, в то время как ряд окислительных моделей *in vitro* (например, окисление пирогаллола в щелочной среде, окисление глюкозы перманганатом и т. д.) дает митогенетические эффекты, такие процессы, как первые этапы окисления жиров, углеводов, окислительного дезаминирования аминокислот, могут не сопровождаться излучением.

Исходя из этих соображений, мы можем без особенной натяжки объяснить отсутствие излучения во все время интеркинеза между двумя последующими делениями и «премитотическую» вспышку излучения.

Действительно, весьма правдоподобно, что внешняя «работа» меристемной клетки (или яйца) в промежутке между двумя делениями исчерпывается по существу усиленной ассимиляцией преимущественно белковых, пластических веществ, причем энергия поставляется усиленными окислительными процессами, которые, как мы только что предположительно заключили, не сопровождаются излучением. Что касается самих синтетических процессов ассимиляции, т. е. образования пептидов (белков) или высоких углеводов из гексоз, то ввиду того, что эти процессы (в известной степени обратные гидролизу) в общем приблизительно

термонеutralны, нет никаких оснований предполагать при них появление свободных радикалов, даже при участии видимого света или кислорода.

Другими словами, мы предполагаем, что во время интеркинеза процессы гидролиза если и имеют место, то отступают во всяком случае на задний план и вместе с тем, что лишь они связаны при известных условиях с появлением свободных радикалов, а вследствие этого и с излучением.

Что касается «премитотической вспышки» излучения, то в силу ряда соображений, которые будут освещены в одной из последующих глав, довольно интенсивный распад высокомолекулярных веществ (белков и углеводов) является вполне правдоподобным.

Аналогичное толкование отсутствия излучения органов, например, печени или почки, наталкивается на значительные затруднения.

При всем богатстве и разнообразии синтетических процессов в печени наличие в печеночных клетках гидролизующих ферментов не подлежит сомнению, и если даже и можно предположить, что процессы гидролиза (исключая, конечно, гидролиз гликогена, где нет оснований предполагать появление радикалов) при нормальном питании не выступают на первый план, то все же это соображение не объясняет постоянного отсутствия излучения нормально функционирующей печени.

Мы затрудняемся дать объяснение этому факту. Одной из возможностей является предположение о наличии в печеночных клетках ряда веществ с двойными связями, легко присоединяющими к себе радикалы и этим самым препятствующими их рекомбинации. От мысли о наличии светофильтров (гасителей) приходится отказаться хотя бы в силу того, что при обратной деградации печени возникает вспышка — деградационное излучение.

Приняв во внимание все эти разнообразные факты и соображения, мы можем с известной обоснованностью истолковывать те или другие особенности излучения живых систем.

Наиболее часто нам приходится считаться с неполнотой так называемого «пептидного» спектра. Вместо 9 полос типичных и постоянных в модельных опытах в излучении живых систем обнаруживается обычно лишь 4—6 полос, которые тем не менее могут быть отождествлены с достаточной степенью достоверности, в особенности после недавних исследований А. А. Гурвич, показавшей, что спектры флюоресценции пептидов становятся постепенно беднее, в зависимости от величины молекулы. Молекулы же нативного белка, повидимому, вовсе не флюоресцируют.

В этих данных заключается, быть может, новый подход к анализу различных состояний белковых тел в живых системах. Особенно интересен, например, с этой точки зрения факт, что в составе очень интенсивного излучения раковой клетки при нормальных для нее условиях, не удалось до сих пор обнаружить

«пептидных» слагаемых, между тем после приблизительно получасового переживания они появляются с явной определенностью.

Из этого сопоставления напрашивается интересный вывод, к которому необходимо, однако, отнестись с большой осторожностью: быстро размножающаяся раковая клетка, интенсивно синтезируя белки, не содержит в своем составе сколько-нибудь значительных количеств низших пептидов, являющихся наилучшими флюоресцентами. Вполне естественно, что в переживающей, хотя еще вполне жизнеспособной раковой ткани начинается расщепление белков, а следовательно, и появление пептидов.

Второй особенностью биологических спектров, отмеченной пока только на элементах нервной системы (А. А. Гурвич), является сдвиг ряда линий в длинноволновую сторону по сравнению с их положением в гомогенных системах. Это явление затрагивается в главе шестой (стр. 84).

Наиболее своеобразны, наконец, особенности излучения живых систем по времени.

Относительно большинства живых систем невозможно с уверенностью или даже с обоснованностью высказаться, излучают ли все элементы непрерывно или периодически? Ответ возможен лишь для нескольких, очень немногих объектов, отчасти путем косвенных умозаключений. Так, например, А. А. Гурвич было обнаружено, что, в противоположность почти всем остальным объектам, так называемое «фракционирование» излучения (т. е. включение между источником и детектором вращающегося диска с секториальными щелями) нервных волокон значительно снижает эффект. Это можно объяснить лишь тем, что излучение нервов обладает собственным ритмом, одного порядка с ритмом диска, и поэтому включение последнего создает трудно поддающиеся учету явления интерференции.

При изучении так называемых меристем, т. е. клеточных комплексов, клетки которых непрерывно размножаются, возникает, естественно, вопрос: излучают ли клетки непрерывно или только в определенные моменты своего жизненного цикла?

Единственный объект, допускающий определенный ответ на этот вопрос, — яйца морских ежей, в силу того, что они после искусственного осеменения делятся строго синхронно, — обнаруживает на основании исследований ряда авторов (Залкинд и Франк, Дорфман и Шмерлинг) довольно резко выраженные периоды: максимум излучения приходится при этом не на акт деления, а на некоторый период времени, ему непосредственно предшествующий и заслуживающий обозначение как «премитоз».

Весьма вероятно, что мы имеем здесь дело не с единичным фактом, но с общим принципом, относящимся в равной степени ко всем делящимся клеткам.

Таким образом, мы имеем в двух, наиболее исследованных объектах — нервных элементах и меристемах — дело с периодическим излучением. Однако аналогия здесь, по видимому, чисто внешняя.

Как мы увидим в главе восьмой, периоды порядка 100—200 вспышек в секунду для нервных элементов являются следствием так называемого «деградационного» характера их излучения. Периоды для меристемных клеток, конечно, совершенно иного порядка времени (от получаса до многих часов) и связаны, повидимому, с теми или иными изменениями метаболизма по мере созревания клетки к делению. К сожалению, этот важный вопрос остается пока совершенно невыясненным. Во всяком случае метаболизм меристемных клеток за весь период интеркинеза достаточно интенсивен для того, чтобы излучение могло быть непрерывным. Для объяснения его отсутствия мы можем подумать об одном из двух факторов, которые уже были проанализированы нами раньше, — об отсутствии флуоресцентных и главным образом отсутствии процессов гидролиза в силу преимущественно синтезирующего характера метаболизма.

Мы воздержимся от дальнейшей дискуссии этого вопроса.

Митогенетическое излучение удается до сих пор обнаружить лишь биологическими детекторами¹, несмотря на наличие ряда важнейших фотохимических эффектов в однородных средах. Это одно уже указывает на существенное различие тех и других.

Лишь в биологических объектах осуществляется переход эффектов из микрообласти в макрообласть.

Если бы нечто подобное имело место и для неорганизованных систем, все положение дела было бы существенно иным.

При анализе вторичного излучения (глава 4) мы уже убедились, что ничтожная интенсивность эффекта, несмотря на его неограниченную экстенсивность, приводящую к цепным реакциям с громадным выходом, объясняется, повидимому, появлением гасителей, приводящим к замиранию процесса. Однако удалось показать, что живые системы (дрожжи) обладают способностью разрушать гаситель по мере его накопления.

Одна из возможностей перехода в макроскопическую область в живых системах бесспорно дана уже самим этим фактом. Однако было бы очень наивным не подумать и о других, более сложных и глубоких причинах.

Прежде всего необходим обзор различных «макроскопических» эффектов в живых системах. Они поражают своим разнообразием.

Наиболее замечательным нам представляется обнаруженный супругами Ж. и М. Магру эффект облучения половых продуктов морских ежей до оплодотворения. При этом получается резко aberrантные, но закономерные различные типы личинок в зависимости от того, подвергалось ли облучению яйцо или сперма.

Резкие уродства, полученные теми же авторами при облучении уже развивающихся личинок, представляют при всей их поразительной внешней эффектности несколько меньший теоретиче-

¹ Помимо физических методов (счетчика фотонов).

ский интерес, так как не исключена возможность, что они являются прямым следствием чрезмерного размножения мезенхимных клеток, т. е. банального митогенетического эффекта.

К числу макроэффектов, приводящих к уродствам, можно привести интересные наблюдения Залкина над резкой вакуолизацией дрожжевых клеток при достаточно длительном облучении. Из его опытов, проведенных совместно с Букатиной, вытекает, что в дрожжевых клетках наблюдаются при достаточно длительном митогенетическом облучении резкие морфологические изменения, а именно увеличение числа клеток с громадными, заполняющими почти всю клетку вакуолями.

В то время как расхождение в числе клеток с большими вакуолями в различных порциях одной и той же культуры не превышает, по данным Букатиной, $6,3 \pm 4,2\%$, различия между облученными и необлученными порциями выражались в двух сериях: $65 \pm 20\%$ и $53 \pm 11\%$.

Одним из наиболее резких и биологически важных макроэффектов следует считать резкое увеличение проницаемости клеток под влиянием облучения митогенетическими источниками. На ряде растительных объектов Потоцкая добилась этим путем резких оптических эффектов. При облучении печени мыши Бахромеев обнаружил химическими методами выступление глюкозы и соединений с неорганически связанным фосфором из печеночных клеток в окружающую жидкость в количествах, превышающих приблизительно 10 раз норму.

Опыты Потоцкой были выполнены на двух классах объектов — клетках красной свеклы и лепестках различных цветков.

Тонкие ломти из свежей свеклы быстро ополаскивались в воде, разрезались на несколько частей, из которых половина сохранялась в воде в виде контроля, а вторая половина подвергалась облучению в течение приблизительно 15 минут. Эффект облучения проявлялся двояким образом: более раннее и более интенсивное выступление пигмента в воду. Последний феномен был установлен также и колориметрическим путем. В серии из 34 опытов было установлено различие между интенсивностью окраски воды в среднем на $30,1\%$ в пользу облученных кусочков, расхождения же между отдельными кусочками контрольных порций ограничились 4% .

Макроскопические эффекты на лепестках цветов очень резки, хотя, повидимому, не отличаются полным постоянством. Белые лепестки весенних цветов (шиповник, яблоня, а также пионы) покрываются большими, совершенно прозрачными пятнами; в пигментированных лепестках наблюдаются изменения окраски и выступление части пигмента в воду.

Прозрачность объясняется выступлением клеточного сока в интерстиции с соответственным вытеснением воздуха.

Митогенетический макроэффект проявляется в виде истинного парабриоза нерва при достаточно длительном облучении локализованного участка (Латманизова).

Своеобразными макроэффектами можно также считать и резкие терапевтические эффекты, достигнутые Брайнесом при депрессивных формах психозов путем введения облученных аминокислот.

Само собой разумеется, что и основной митогенетический эффект — стимуляция клеточного деления — является по существу макроэффектом, не только потому, что может оказаться доступным невооруженному глазу путем применения мицетокритов или нефелометрии, но и в силу того, что деление клетки само по себе — явление совершенно иного порядка по сравнению с молекулярными микроэффектами.

Нас интересует лишь общая дискуссия, затрагивающая все разнообразные макроэффекты. При этом, конечно, течение внутренних процессов в различных объектах настолько различно, что сравнение возможно лишь в самых общих формах.

В основе всех макроэффектов лежат лишь крайне поздно затухающие разветвленные цепные реакции. Это почти единственное, что может быть высказано в самой общей форме относительно всех макроэффектов.

В противоположность таким же реакциям в однородных системах, такое констатирование само по себе мало значаще, так как проблема заключается в выяснении последствий этих реакций. Все специальные соображения в этой области, которые в настоящее время могут считаться более или менее обоснованными, будут сообщены в соответствующих главах. В общем же проблема по существу в настоящее время почти недоступна для рационального анализа.

Мы можем тем не менее высказать некоторые предположения, касающиеся вопроса о долгом незатухании цепных реакций, берущих свой старт от поглощенного фотона.

Контраст между одними и теми же цепными реакциями *in vitro* и в организованных системах действительно поразителен.

В виде примера мы приведем детально изученную нами реакцию фотосинтеза пептидов. Из главы второй мы знаем, насколько резко очерчена здесь длинноволновая граница эффективного облучения, какова роль видимого или инфракрасного цвета и кислорода.

Все эти условия и параметры с такой точностью совпадают в случае основного митогенетического эффекта, т. е. стимуляции митозов, что не может быть ни малейшего сомнения в том, что этот процесс исчерпывается тем, что поглощенный клеткой фотон вызвал цепную реакцию фотосинтеза пептидов. Но в то время как при условиях модельного опыта реакция обрывается на ничтожной достигнутой концентрации поликонденсата, в клетке она приводит к оставляющему ясные микроскопические следы огромному обогащению тела клетки пластическими материалами.

К пониманию этого основной важности явления можно подойти путем двойного допущения: 1) вызванная поглощением фотона

цепная реакция синтеза пептидов сама по себе кратковременна и обрывается, но служит как бы стартом для новой, эндогенной реакции, при участии собственных клеточных ферментов; 2) вызванная фотоном реакция встречает условия, позволяющие ей протекать продолжительное время, не обрываясь.

Первая концепция теоретически, конечно, вполне возможна, но совершенно не поддается ни экспериментальной проверке, ни учету, вторая, наоборот, открывает некоторые возможности для дальнейших конструкций и обобщений.

Если мысленно сопоставить условия поликонденсации *in vitro* с тем же процессом в живых системах, то следует признать, что быстрое затухание цепной реакции в первом случае остается далеко не выясненным. Во всяком случае нет оснований ссылаться на появление тормозящих реакцию веществ, подобно тому, что происходит при реакциях расщепления. По крайней мере в единственно правдоподобной энергетической схеме цепной поликонденсации для появления таких веществ (если не думать о радикалах) вовсе нет места. Единственно правдоподобным является предположение, что поликонденсаты *in vitro* обладают очень слабой устойчивостью, и поэтому по мере их накопления устанавливается равновесие между процессами конденсации и распада.

Если исходить из этого предположения, вытекает и довольно простое объяснение длительности и высокого уровня насыщения поликонденсатов в живых системах: в них существуют благоприятные условия для устойчивости поликонденсатов, и эти условия мы видим предположительно в «молекулярной упорядоченности», характеризующей входящие в состав живых систем вещества.

Понятие «молекулярной упорядоченности» лежит, как мы увидим в дальнейшем, в основе нашей концепции жизненных процессов. Здесь мы ограничимся лишь ее беглой характеристикой, используя для этого особенно наглядный пример — нервные волокна.

Путем местного облучения в нервном стволе вызывается вторичное излучение, распространяющееся без декремента на неограниченно большие расстояния. Наиболее вероятно, что субстратом распространения вторичного излучения являются нейрофибриллы, т. е. нити диаметром в дробные части микрона.

И из теоретических соображений, и из экспериментальных данных известно, однако, как быстро затухают цепные реакции в узких сосудах. А. А. Гурвич показала, что в капиллярных трубках диаметром около 0,2 мм вторичное излучение растворов глюкозы и белка затухает уже на протяжении 5—6 см.

Оно проводится, однако, растворами белков без декремента при течении раствора в трубке.

Молекулы белка, по видимому, ориентируются при этом своими диполями по длине столба жидкости и при достаточной концентрации оказываются расположенными своими концами в непосредственном соседстве друг с другом. При этих условиях шансы для

передачи энергии возбуждения от одной молекулы к другой значительно повышаются.

Нечто подобное тому, что осуществляется на модели путем приложения энергии извне, мы можем себе представить в виде «молекулярной упорядоченности» в нейрофибриллах. Входящие в их состав молекулы распределены не статистически, как в растворах, а располагаются закономерно друг относительно друга, например, в виде цепей, которые и являются простейшим прототипом молекулярной упорядоченности. При этом, однако, не только не постулируется, но, как будет видно в дальнейшем, отрицается связь между молекулами посредством сил притяжения, хотя бы вроде ван дер Ваальсовых.

Для поддержания молекулярной упорядоченности затрачивается, наоборот, энергия, вследствие чего молекулярные комплексы этой категории обозначаются нами как неравновесные комплексы.

ГЛАВА ШЕСТАЯ

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ ТЕОРИЯ ПРОТОПЛАЗМЫ

А. ВВЕДЕНИЕ. ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ

Протоплазма является основным и наиболее обобщенным биологическим понятием. Однако, несмотря на всеобщность и видимую неизбежность пользования им, мы едва ли сможем остановиться на каком-либо определении протоплазмы, имеющем и заслуживающем общее признание. Наоборот, редко можно встретить термин более расплывчатый и непостоянный по вкладываемому в него смыслу.

Чисто морфологические теории протоплазмы, процветавшие еще в начале этого столетия, повидимому, совершенно утратили свой интерес, но они не нашли замены в каком-нибудь разработанном и последовательно проведенном представлении общепризнанного характера.

Объяснение такого, несомненно, ненормального положения кроется, повидимому, в неудачном, хотя очень распространенном определении сущности самой биологии.

Если, как это часто имеет место, биология определяется как «наука о жизни», то вполне последовательно и обычное определение протоплазмы как «материального носителя жизни» или даже как «живого вещества». Здесь и заключается основная ошибка.

Научная биология как эмпирическая наука вовсе не занимается изучением «жизни». Объектом ее изучения служат всегда те или иные отдельные и конкретные, главным образом поддающиеся достаточно ясному определению жизненные проявления. Поэтому лишены всякого смысла и упомянутые только что определения протоплазмы как «материального носителя жизни».

Но вполне законным и, повидимому, необходимым является употребление термина «протоплазма» в более ограниченном смысле в применении к только что данному нами определению задач биологии.

Выражение «материальный носитель такого-то определенного данного жизненного проявления» вовсе не лишено конкретного смысла, хотя, несомненно, страдает расплывчатостью и требует более точной формулировки. Согласие на пользование термином «протоплазма» в этом ограниченном смысле влечет за собой чрезвычайно важное и, может быть, до сих пор недостаточно осознанное последствие.

Если в каждом конкретном случае протоплазма есть материальный субстрат какого-нибудь данного жизненного проявления, то из этого следует, что каждое такое проявление имеет или может иметь свою собственную протоплазму, быть может, и даже очень вероятно, резко отличную по своим свойствам от другой протоплазмы. Обобщенное понятие единой протоплазмы является поэтому беспочвенным или по крайней мере недостаточно обоснованным, т. е., выражаясь точнее, возможность или существование единой протоплазмы нуждается в эмпирическом обосновании.

Мы должны, однако, вернуться к более точной формулировке общеупотребительного термина «материальный носитель».

Жизненные проявления представляются для объективного исследования во многих случаях как обнаруживаемые тем или иным (морфологическим или химическим) путем изменения определенных материальных субстратов. Поэтому вполне естественно рассматривать в первом приближении эти субстраты как протоплазму и на этом основании пытаться характеризовать ее по морфологическим или химическим признакам.

Было бы крайне наивным (что, впрочем, еще недавно делалось) связывать наши представления о материальном субстрате со случайными, т. е. технически обоснованными, пределами микроскопически видимого или химически обнаруживаемого. Это было уже давно осознано рядом биологов, которые сделали и делают, однако, как раз в новейшее время неправильные выводы из этого заключения.

Делаются попытки расширения «видимого» отчасти путем применения новых методов микроскопии (включая, например, рентгеновский анализ, ультрафиолетовый и даже электронный микроскоп и т. д.), частью путем чисто спекулятивных представлений, заимствованных главным образом из данных химии коллоидных, высокомолекулярных веществ.

Но речь идет при этом о дальнейшем расчленении или анализе субстрата, который без достаточного основания уже обозначен как «протоплазма». Этот путь основан, как нам кажется, на неверных предположениях и поэтому ложен. Из самого факта, что определенные субстраты претерпевают те или иные изменения при определенных жизненных проявлениях, еще вовсе не следует, что они являются материальными носителями этих жизненных процессов.

Этот путь нам представляется ложным, так как уже в области грубо микроскопического можно во многих случаях установить очень далеко идущее отсутствие связи между ходом и характером основных жизненных проявлений и «строением» материальных субстратов, понимая термин «строение» в самом общем смысле пространственного распределения материальных (частиц). Этот факт, твердо установленный уже несколько десятков лет назад, остался незамеченным и не отразился на исследованиях, посвященных нашей проблеме даже в самое новейшее время.

Речь идет об очень далеко идущем разрушении путем центрифугирования всей архитектуры тела яиц различных животных (амфибий, мор-

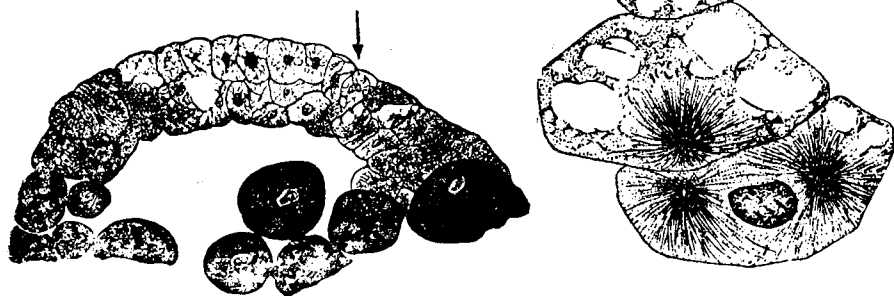


Рис. 10 (слева) и 11 (справа). Анимальная половина бластулы тритона, развившегося из яйца, центрифугированного до дробления. Резкое расчленение на три зоны—крупнопузырчатую, со сплошной густой протоплазмой и зону желтка. Правильность дробления и формообразование при этом не нарушены. Стрелкой обозначен участок, изображенный при большом увеличении на рис. 11.

ских ежей), не нарушающем нормального хода эмбрионального развития (по крайней мере на ранних стадиях) (рис. 10 и 11).

Мы постараемся сделать из этих наблюдений совершенно объективные выводы.

Сопоставление состояний нескольких соседних клеток, образовавшихся после нарушения обычной топографии материального субстрата, показывает, что акт деления совершился вполне одинаково в тех случаях, где все тело материнской клетки, ее незначительная или даже совершенно ничтожная часть заполнена субстратом определенного микроскопического (оптического) характера (называемым обычно «протоплазмой»). Из этого вытекает, что клетки как бы «не заинтересованы» в том или ином количестве или состоянии своего материального субстрата, т. е. что видимое под микроскопом вещество не является «материальным носителем» рассматриваемого жизненного проявления.

Из этого неоспоримого факта напрашивается также бесспорное на первый взгляд умозаключение

«Материальный носитель» заключается в субмикроскопических частицах, которые вовсе не пострадают от воздействия центрифуги, т. е. от пространственного перераспределения различных составных частей субстрата. Этот вывод в своей основе бесспорен, но его дальнейшие последствия далеки от ясности.

Действительно, так как пространственное распределение этих частиц подверглось во всяком случае радикальнейшим изменениям, а течение основного макропроцесса не претерпело отклонения, то является необходимость договориться относительно того, при каких предположениях или условиях мы будем обозначать материальные частицы, заключенные в живых системах, «носителями» жизненных явлений. Мы остановимся на следующей формулировке.

Материальными носителями данного жизненного процесса, представляющего собой «объемлющее» понятие (например, эволюция формы или деление клетки), могут считаться лишь те частицы, входящие в состав объемлющего, с изменениями которых однозначно связан данный жизненный процесс. Содержание этих изменений будет, конечно, всецело зависеть от того процесса, в котором они в данном случае принимают участие. Так, например, в процессе пространственного (кинетического) характера, вроде митоза, эволюция частиц может в некоторых случаях ограничиваться чисто пространственным передвижением и т. д.

С этой точки зрения результаты только что приведенных опытов с центрифугированием могут быть истолкованы лишь в одном смысле.

Так как субмикроскопические частицы любого порядка (вплоть до молекул) претерпели радикальные перемещения по сравнению с нормой и этим самым то участие каждой из них в клеточном делении, которое намечалось до экспериментального воздействия, во всяком случае заменено совершенно иным, то, не отрицая их участия в процессе деления, можно лишь сказать, что они теми или иными факторами «вовлекаются» в этот процесс, но ни в коем случае нет обратной зависимости процесса деления (объемлющего понятия) от свойств данных частиц.

Между тем смысл самого понятия «материальный носитель», понятия «протоплазмы», заключается, конечно, именно в такой зависимости результата (объемлющего представления) от элементарных актов, протекающих в частицах, составляющих в совокупности понятие «материального носителя». Мы полагаем, таким образом, что наши представления о материальном носителе жизненных процессов, т. е. о протоплазме, не должны основываться на структурном анализе субстрата самого по себе, вне определенного функционального состояния, — анализе, который как раз в последнее время приобретает, повидимому, новое значение.

Объективно обоснованное представление о протоплазме можно найти, по нашему мнению, лишь исходя из реактивного характера всех доступных нашему исследованию жизненных проявлений.

Исходным пунктом подавляющего большинства жизненных проявлений служат характеризующие физически или химически «раздражения»¹.

Исследование жизненного проявления равнозначно установлению возможно непрерывной цепи последовательных процессов в системе, берущих начало от раздражения и завершающихся наблюдаемым жизненным проявлением этой системы.

Объектом воздействия раздражителей являются в конечной инстанции определенные материальные частицы системы, изменения этих частиц в свою очередь вызывают изменения последующих и т. д.

Мы можем условиться обозначать совокупность материальных частиц, являющихся звеньями реакции на раздражение, приводящей к наблюдаемому непосредственно жизненному проявлению, как его протоплазму.

Из этого определения протоплазмы вытекает ряд следствий.

1. Как мы видим, материальный субстрат (совокупность частиц) охарактеризован только реакцией, т. е. процессом. Это дает нам право говорить о физиологической теории протоплазмы.

2. Из определения вовсе не следует, что при различных реакциях вовлекаются одни и те же материальные частицы системы, т. е. не предполагается материальное постоянство субстрата, обозначаемого как протоплазма.

3. Данное нами определение протоплазмы не указывает на то, что вообще возможна общая теория протоплазмы, т. е. достаточно богатое содержанием, обогащающее наши представления высказывание, применимое ко всем биологическим процессам. Вопрос этот подлежит чисто эмпирическому разрешению. Попытка такого обоснования общей теории и является нашей задачей.

Мы увидим, что нам удалось до некоторой степени приблизиться к поставленной цели и что основным является метод митогенетического анализа.

Обнаружено, чего совершенно нельзя было предвидеть, что митогенетическое излучение является при определенных, осуществимых лишь в живых системах условиях совершенно всеобщей реакцией живых систем. При этом условия возникновения этих реакций дают ключ к пониманию некоторых ее звеньев, а следовательно, и свойств субстратов, остававшихся до сих пор неизвестными и недоступными исследованию. Эти свойства оказались в пределах очень разностороннего опыта всеобщими. Поэтому удастся выставить некоторые положения, имеющие принципиальное значение и позволяющие установить основы общей теории протоплазмы, с достаточной степенью обоснованности ее всеобщности.

¹ В тех случаях, где такие «раздражители» не могут быть непосредственно обнаружены, их существование обычно постулируется.

В. ОБЩАЯ ФОРМУЛИРОВКА ПОНЯТИЯ МОЛЕКУЛЯРНОЙ УПОРЯДОЧЕННОСТИ В ЖИВЫХ СИСТЕМАХ

Мы увидим в дальнейшем, что митогенетический анализ выдвигает всю важность так называемых цепных процессов в живых системах.

Распространение цепных реакций в объемах с малым диаметром, например, нервах, возможно, однако, лишь при условии «упорядоченности» реагирующих частиц (молекул, мицелл).

Понятие упорядоченности, конечно, очень общее и охватывает самые различные случаи, начиная от длинных, более или менее стойких молекулярных (мицеллярных) цепей, звенья которых связаны друг с другом побочными валентностями (или ван-дер-ваальсовыми силами), и кончая ориентировкой частиц, увлекаемых быстрым током жидкости, обнаруживаемой иногда возникающей при этом оптической анизотропией системы. Сюда же можно отнести и мономолекулярные пленки (монофильмы).

Само собой разумеется, что понятие упорядоченности не ограничивается пространственными взаимоотношениями в одном измерении и может быть перенесено с таким же правом и на трехмерные, пространственные взаимоотношения частиц.

Приведенные нами два крайних случая упорядоченности — стойкие молекулярные цепи и ориентировка свободных частиц при ламинарном течении (или в поле) — заставляют нас ввести, конечно, и дополнительную характеристику степени устойчивости.

В живых системах представлены два крайних типа устойчивости — миофибриллы (и коллагенные фибриллы), с одной стороны, и аппараты проведения нервного возбуждения, повидимому, связанные с нейрофибриллами, — с другой. Мы проанализируем некоторые проявления последнего.

Уже сам факт проведения излучения в нервном волокне на десятки сантиметров без следов декремента не оставляет сомнений в том, что субстрат митогенетической реакции молекулярно упорядочен, а так как в данном случае проведение совершается лишь в линейном смысле, то мы можем рассматривать упорядоченность как «молекулярные цепи», не предрешая пока ничего относительно характера связей между молекулами, входящими в их состав.

Это положение получает, помимо своей чисто дедуктивной вероятности, ряд экспериментальных подтверждений.

Наиболее убедительным является, по нашему мнению, сдвиг спектральных линий излучения по сравнению со спектрами-эталопами.

При исследовании спектральных линий спектра флуоресценции глюкозы (А. А. Гурвич) в последнее время было обнаружено, что в тех случаях, где можно предположить взаимодействие между молекулами, приводящее к некоторой их деформации (например, при их ориентировке в пристеночном слое в электрическом поле), спектральные полосы сдвигаются несколько в длинноволновом направлении по сравнению с эмиссионным спектром раствора, т. е. свободных молекул. Те же полосы в эмиссионном спектре

нерва сдвинуты по крайней мере настолько же и в том же направлении, как в случае ориентировки молекул раствора полем. Вместе с тем при исследовании парабиотического участка нерва, являющегося непроходимым для возбуждения и излучения, чисто местное излучение обнаруживает эмиссионный спектр с расположением полос соответственно свободным, находящимся в растворе молекулам.

Из этого вытекает двоякое следствие.

1. При состоянии нормальной проводимости нерва молекулы, входящие в состав аппарата проведения, деформированы подобно ориентированным и влияющим друг на друга молекулам, находящимся в пристеночных слоях в электрическом поле.

2. Нарушение проводимости связано с нарушением молекулярной упорядоченности.

Убедившись в молекулярной упорядоченности субстрата проведения возбуждения, мы в то же время на основании спектрального анализа обнаруживаем многообразие его состояний, тесно и вполне однозначно связанное с тем или иным физиологическим состоянием нерва и со своеобразием данного вида возбуждения (ср. главу девятую). Если представить себе быструю, непрерывную и в некоторых случаях (как, например, в зрительном аппарате) бесконечно многообразную смену возбуждений одного и того же волокна, мы должны притти к заключению о непрерывных и столь же разнообразных перестройках и молекулярных цепей. При этом мы должны принять во внимание и следующее обстоятельство.

Переход элементов нервной системы из одного состояния в другое в очень значительной степени¹ лишен гистерезиса. Этот факт приводит нас к следующим соображениям.

Представим себе, что какое-либо раздражение P является в одном случае на смену предшествовавшего раздражения M , в другом случае раздражения N и в обоих случаях приводит к одному и тому же состоянию возбуждения. Если допустить (что совершенно неизбежно), что возбуждению M соответствует состояние m молекулярной цепи, а возбуждению N состояние n цепи и если принять во внимание, что воздействие нового раздражителя P , встречая различные состояния m и n молекулярной цепи, тем не менее переводит ее в одно и то же новое состояние p , то мы, несомненно, наталкиваемся на трудно преодолимое противоречие. Единственным выходом из него является, по видимому, следующее допущение: между состоянием m и состоянием n всегда вклинивается третье, монотонное «индифферентное» состояние, которое мы обозначим X . Поэтому при возникновении любого нового состояния возбуждения, которое мы обозначили p , безразлично, предшествовало ли ему состояние m или n . Но из этого вытекает и дальнейшее: состояние m субстрата существует и поддерживается лишь

¹ Конечно, за исключением явлений световой адаптации и других проявлений последствий длительных и чрезвычайно интенсивных зрительных впечатлений. Мы имеем в виду непрерывную смену обычных зрительных впечатлений, которая не влечет за собой ощутимого гистерезиса.

наличием раздражителя M . В момент его исчезновения исчезает и состояние m . Мы приходим теперь к окончательному выводу. Каждое из регистрируемых состояний субстрата m, n, \dots есть отклонение субстрата из его состояния X , отклонение, которое, будучи предоставлено самому себе, не сохраняется и спонтанно переходит в состояние X . Это равнозначно тому, что состояние X есть в некотором роде состояние равновесности; состояния m, n, \dots — состояния неравновесности.

Мы убедились, что в разобранном нами случае мы имеем дело с молекулярной упорядоченностью совершенно своеобразного характера, так как она охарактеризована своей неравновесностью. Вместе с тем молекулярные цепи, являющиеся материальным субстратом реактивной цепи нервного возбуждения, в полной мере удовлетворяют данному нами определению протоплазмы, как совокупности материальных частиц, являющихся звеньями той реакции на раздражение, которая приводит к непосредственно воспринимаемому жизненному проявлению.

Анализ излучения нервного волокна приводит нас, таким образом, к определенной концепции субстрата возбуждения и проведения. Мы имеем основание для утверждения, что неравновесные констелляции являются «протоплазмой» процесса, обозначаемого как нервное возбуждение.

Однако мы не должны скрывать от себя, что имеем дело с явлением, правда, первостепенной важности, но в то же время очень своеобразным и его обобщение в виде общей теории протоплазмы, не подкрепленное широкой экспериментальной основой, было бы совершенно не мотивировано.

Такая экспериментальная база в действительности существует, как мы уже указывали во введении, и анализ полученных экспериментальных данных показывает, что было вполне правильным и законным рассматривать результаты, полученные при анализе мутагенетических явлений нервного возбуждения, как вполне подходящий пример или частный случай общей теории.

Мы имеем в виду депрадационное излучение, возникающее во всех испытанных животных и растительных тканях при их охлаждении или других эквивалентных воздействиях. При его детальном анализе мы убедимся, насколько обоснованно представление, что аппаратами для всех доступных объективному исследованию жизненных проявлений различных систем, действительно, являются неравновесные, непрерывно возникающие, эволюционирующие и видоизменяющиеся молекулярные констелляции.

Мысль о том, что жизненные процессы по самому своему существу сопряжены с неравновесными состояниями субстратов, конечно, стара, как и самое размышление над биологическими процессами. Сравнение жизненных процессов с пламенем (Гельм-

гольц, Ру), введенное Ауэрбахом понятие эктропии и т. п. относятся к этой категории общих и в сущности бессодержательных понятий. Они равнозначны констатированию того факта, что в живых системах не существует окончательных состояний, т. е. за состоянием В, получившимся из состояния А, следует состояние С и т. д., причем не предрешается вопрос, являются ли все или некоторые, и какие именно, переходы из одного состояния в другое, экзо- или эндотермическими процессами.

Между тем именно этот вопрос является решающим и заключает в себе истинную и только эмпирическим путем разрешимую проблему.

На эту точку зрения первым, повидимому, стал Варбург (1911).

На основании своих наблюдений над потреблением кислорода при дроблении яиц морского ежа он высказал предположение, что в системах столь малых размеров, как клетки, поддержание гетерогенности (многофазности) протоплазмы требует непрерывной затраты энергии, противодействующей идущим спонтанно процессам выравнивания (диффузия). Из этого, конечно, следует, что те слагаемые, которые требуют для своего поддержания затраты энергии, неравновесны (хотя сам Варбург и не пользуется этим понятием)¹.

Мы, видим, что, в противоположность приведенным выше общим соображениям, носящим характер очевидности, мысль Варбурга идет по совершенно иному направлению: исходя из экспериментальных данных специального характера, он высказывает не очевидный тезис, а лишь гипотезу, которая в дальнейшем может оправдаться или быть опровергнутой. В первом случае получилось бы действительное обогащение наших знаний в области энергетики живых систем.

Из представлений, развитых Варбургом, вытекает следующее: так как неравновесность системы здесь равнозначна ее состоянию на высоком энергетическом уровне (соответствующем затрате энергии на ее поддержание), то при остановке притока энергии это состояние необходимо переходит на более низкий уровень, что сопряжено с выделением соответственной энергии.

На эту же точку зрения стал в последнее время Бауэр, обобщивший понятие неравновесности живых систем, введя понятие «устойчивого неравновесия».

Конкретная проблема исследования заключается в обнаружении в той или иной форме освободившейся энергии и в выяснении свойств этих неравновесных состояний. Опыт показал, что эта

¹ «Die Vermutung, dass Arbeitsleistungen im Bereich sehr kleiner Dimensionen notwendig sein könnten, damit die Struktur der Zelle, die räumliche Trennung von Stoffen, die Zusammensetzung der semipermeablen Wände usw. erhalten werde. In der Tat lässt sich schwer denken, auf welche Weise unter den in der Zelle gegebenen Bedingungen eine räumliche Trennung verschiedenartiger Stoffe im Laufe des Lebens aufrecht erhalten werden könnte, ohne dauernde Arbeitsleistungen ohne dass von selbst verlaufende Vorgänge wie Diffusionen rückgängig gemacht werden».

задача в известной степени выполнима при помощи митогенетического анализа.

При пресечении притока энергии к системе или внутри системы путем охлаждения или наркоза во всех исследованных системах действительно освобождается энергия в виде излучения (что в несколько иной форме предполагал и Бауэр). Но вместе с тем оказывается, что при некоторых воздействиях на живые системы, где мыслимо лишь чисто механическое нарушение пространственного распределения («конstellяций») молекул, получается аналогичный эффект, причем все перечисленные воздействия эквивалентны друг другу, т. е. применение одного из них, повлекшее за собой излучение, делает неэффективным последующее применение любого другого воздействия.

Из этого напрашивается вывод, что потенциальная энергия неравновесных конstellяций представляет по существу «энергию положения» соответственных молекул.

Как создаются условия, при которых освобождение энергии сопровождается излучением, выяснится из дальнейшего.

С. ДЕГРАДАЦИЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ КОНСТЕЛЛЯЦИЙ И ДЕГРАДАЦИОННОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ

1. Методы вызывания деградационного излучения

Экспериментальным подтверждением развитых нами представлений о неравновесных молекулярных конstellяциях служит, как мы видели, появление излучения из живых систем при приложении факторов, действие которых мыслимо лишь как нарушение условий, поддерживающих те или иные составные части системы на высоком потенциале.

При этом действие каждого из примененных факторов характеризует объект их воздействия с той или иной стороны.

а) Охлаждение и легкий наркоз. Внезапное охлаждение (до 2—5°) самых различных живых систем или легкий наркоз (эфир) вызывает появление излучения в тех случаях, где те же системы при физиологических условиях не излучают или приводят к резкому сдвигу спектрального состава физиологического спектра. Длительность этой вспышки измеряется, в зависимости от объекта и от температуры охлаждения, несколькими минутами или десятком минут.

Непосредственное действие обоих факторов (особенно охлаждения) на живые системы может распространиться только на их метаболизм, конечно, в смысле его подавления. Это действие в пределах опыта нацело обратимо. Суждение о связи между этим непосредственным эффектом и появлением излучения остается гипотезой, могущей, однако, претендовать на значительную степень вероятности.

Мы представляем себе, что определенные молекулярные комплексы в системах находятся на высоком потенциале (в неравно-

весном состоянии), поддерживаемом непрерывным притоком и затратой энергии, доставляемой метаболизмом. При пресечении притока энергии неравновесные комплексы переходят на более низкий, равновесный уровень, освобождая при этом энергию, которая (или часть которой) отдается в виде излучения.

Мы должны проанализировать несколько подробнее механизм возникновения деградационного излучения.

Согласно нашему основному допущению, на поддержание неравновесных молекулярных констелляций затрачивается энергия, и поэтому они обладают известной потенциальной энергией, освобождающейся при их распаде. Нет, однако, никаких оснований считать, что деградационное излучение возникает за счет именно этой энергии, так как потенциал неравновесных молекулярных констелляций, взятых как целое, не может, конечно, соответствовать энергии ультрафиолетовых фотонов. Для организованных систем реальное значение неравновесным констелляциям можно придать лишь в том случае, если их потенциальная энергия соответствует энергии, выделяемой при основных экзотермических процессах метаболизма, теплотность которых (например, процессов окисления) выражается примерно 30—40 ккал.

Существенным для возникновения деградационного излучения при распаде неравновесных констелляций является, по нашему представлению, тот факт, что неравновесные констелляции представляют собой общие энергетические уровни, допускающие циркуляцию (а при известных условиях и кумуляцию) энергии до ее отдачи тем или иным путем.

Мы можем себе поэтому представить, что подобно тому, что, повидимому, имеет место при возникновении митогенетического излучения при физиологических условиях, кванты энергии, соответствующие ультрафиолетовым фотонам, являются результатом рекомбинации радикалов. Однако в противоположность непосредственному высвечиванию этой энергии при нормальных обстоятельствах путем ее поглощения и эмиссии подходящими флюоресцентами, часть энергии рекомбинации радикалов, поглощенная молекулами, входящими в состав неравновесных констелляций, может некоторое время циркулировать по ним, передавая состояние электронного возбуждения от одной молекулы к другой, или переводить ту или иную молекулу в состояние метастабильного возбуждения. В силу этого в момент распада неравновесной констелляции всегда окажется некоторое количество свободных молекул в состоянии нормального (или метастабильного) электронного возбуждения, являющегося источником деградационного излучения.

Составить себе более конкретное представление о соответственных молекулярных комплексах на основании данных с охлаждением (наркозом), конечно, невозможно. Однако они имеют решающее значение для установления, с очень высокой степенью вероятности, самого принципа экспериментального доказательства неравновесности определенных молекулярных комплексов.

Второй гипотезой является представление, что молекулярные комплексы, о которых только что шла речь, представляют собой молекулярно упорядоченные, охарактеризованные чисто пространственными параметрами констелляции. Эффекты, получаемые при охлаждении (или наркозе), не дают сами по себе никаких указаний на этот счет. Сопровождается ли снижение энергетического уровня (деградация) комплексов при охлаждении какими-либо изменениями пространственных параметров молекулярных комплексов, судить на основании опытов с охлаждением, конечно, невозможно.

Но оказывается возможным вызвать кратковременное излучение неизлучающих нормально систем применением двух других факторов, имеющих, повидимому, более непосредственное отношение к параметрам пространственного характера молекулярных комплексов.

Деградационное излучение возникает, как мы видели, при внезапном, но умеренном снижении температуры (до 2—5°). При этих температурах ослабляются очень значительно или даже замирают основные процессы метаболизма. В этом можно убедиться двояким путем: 1) испытывая излучение на соответственных ферментативных системах *in vitro* и 2) наблюдая резкие изменения эмиссионного спектра на тех объектах, где излучение имеет место при физиологических условиях.

Длительность (а также, повидимому, и интенсивность) деградационного излучения в значительной степени зависит от применяемой температуры, но вместе с тем она очень различна в разных органах.

В растительных тканях деградационное излучение длится, судя по предварительным данным, не больше 10—15 минут при охлаждении около 5°, при температуре около 0° его длительность не превышает 1—2 минут, с довольно резким декрементом по времени, т. е. с очень резкой внезапной вспышкой при погружении в ледяную воду с кусками льда.

*Свежая луковая пленка, положенная на лед
и прикрытая пластинкой льда*

1-я минута испытания	Следующие 11/2 минуты испытания
45	0
51	-2
35	-6

(эффект в %)

Деградационное излучение большинства животных тканей при температуре 5—7° значительно более длительно и достигает в некоторых органах (печень, мышцы, мозг лягушки) 30 минут. И здесь применение значительно более низких температур (раствор Рингера, замерзание при -2°) приводит к сильной, но короткой вспышке.

Печень после предварительного охлаждения
в течение 23 минут при $5-7^{\circ}$. . . 45%

Эффект
в %

То же, в растворе Рингера при -2°

Первые 5 минут	42
Вторые 5 »	9
Третьи 5 »	3

б) Центрифугирование. Во время достаточно интенсивного центрифугирования различных систем обнаруживается интенсивное излучение, прекращающееся через несколько минут. При предварительном охлаждении объектов последующее центрифугирование остается безрезультатным. То же имеет место и при обратной последовательности: погружение в холодные растворы после центрифугирования не сопровождается излучением.

Центрифугированию подвергались различные органы и ткани — корешки бобовых, печень и почки мыши. Центрифугирование производилось в сосуде с кварцевым дном; против направленного во время вращения вертикально кварцевого дна сосуда в кожухе центрифуги находилось закрытое кварцевой пластинкой отверстие, против которого устанавливался детектор. Длительность экспозиции детектора при каждом пробеге порядка $1/6000$ секунды при 3 000 оборотах в минуту, общее время экспозиции было равно 5 секундам в минуту.

с) Пропускание слабого постоянного или переменного тока. Явления те же, что и при центрифугировании.

Оба эти фактора могут в условиях опыта рассматриваться как чисто механическое воздействие на молекулярные комплексы; действие их выражается в перемещении частиц¹ друг относительно друга. Если такие перемещения имеют последствия, которые нам уже известны, то вряд ли может оставаться сомнение в том, что они ведут к разрывам каких-то пространственных взаимоотношений молекул. С другой стороны, ввиду того что результаты температурного воздействия, наркоза и механических факторов между собой эквивалентны, можно заключить, что эти пространственные взаимоотношения молекул образуют какие-то системы неравновесного характера.

Излучение при пропускании тока также испытывалось на различных органах и тканях. Из растительных объектов были использованы луковичные пленки и корешки подсолнечника и бобов, из животных тканей — печень мыши и кролика.

Тонкие платиновые электроды накладывались на поверхность испытуемого объекта, обычно на расстоянии 12—15 мм друг от

¹ Само собой разумеется, что под «частицами», увлекаемыми центробежной силой или током, мы имеем здесь в виду не молекулы, а единицы совсем других порядков, как-то: крупные заряженные коллоидальные частицы или даже микроскопические гранулы.

друга. Излучение бралось посредине между электродами, что практически исключало последствия, которые могут возникнуть от местных процессов на электродах. Более близкие расстояния были неизбежны лишь при пропускании тока через корешок в поперечном направлении.

Сила тока колебалась между 0,02 и 0,05 mA при 4—6 V. Применение таких токов в течение 3—5 минут, повидимому, не влечет за собой необратимых результатов; в частности, наложение электродов на печень живого кролика, обнаженную через небольшой разрез в брюшных покровах, на протяжении нескольких дней не давало каких-либо отклонений от нормы (рана, конечно, зашивалась после каждого опыта).

Приведем несколько опытов в виде примера.

	Эффект в %
Свежеотрезанный корешок лука:	
на электродах без тока	2
во время пропускания тока (5 минут)	73
то же следующие 5 минут	21
ток выключен	5
Свежеотрезанный корешок боба на электродах:	
без тока	6
во время пропускания тока (5 минут)	62
ток выключен	0
Луковая пленка на электродах:	
без тока	4
с переменным током (6 минут)	53
с постоянным током (6 минут)	40
Печень живого кролика:	
электроды наложены без тока	2
переменный ток	45

d) Митогенетическое облучение. В известном смысле можно рассматривать и митогенетическое облучение тканей как фактор, вызывающий деградационное излучение. Действительно, после достаточно продолжительного облучения ткани утрачивают способность к деградационному излучению при охлаждении. Так, например, облученная в течение 10 минут печень при погружении в холодный раствор дала нулевой эффект индукции (5%), вторая половина той же печени, сохранявшаяся при комнатной температуре, +60°.

Более детальный анализ результатов действия всех этих факторов позволяет составить себе конкретное представление об основных свойствах неравновесных констелляций.

В этом отношении особенно удобно использовать ростки растений. Их физиологический спектр, соответствующий спектрам флюоресценции глюкозы, пептидов и фосфатидов, нацело сменяется при охлаждении новой гарнитурой полюс, не включающей ни одной из прежних.

Деградационное излучение было обнаружено на различных растительных объектах — дрожжах, корешках лука и подсолнечника, различных бобовых и пленках лука. Полная обратимость

деградационного излучения обнаруживается на целых ростках, а после кратковременного охлаждения и на отрезанных корешках.

Из животных тканей исследованы куриные зародыши, эпителий роговицы, печень (мышь, лягушка, кролик), почка мыши, селезенка, мозг мыши, кролика и лягушки, слизистая оболочка желудка, скелетные мышцы.

2. Взаимоотношения между действиями на живые системы перечисленных факторов

Возможность вызвать излучение в обычно неизлучающих системах путем применения столь различных факторов, как охлаждение, наркоз, наложение тока и центрифугирование, приобретает особый интерес ввиду их взаимоотношений. Мы уже указывали, что применение любого одного из них оставляет безрезультатным последующее применение другого.

Испробованы были различные комбинации.

	Эффект в %
I. Излучение корешков боба при пропускании постоянного тока (5 минут)	23 78
Последующее охлаждение тех же корешков	4 7
Охлаждение таких же корешков без предварительной электризации	57 30
II. Излучение корешков боба при пропускании переменного тока (5 минут)	63 46
Последующее охлаждение тех же корешков	2 2
Охлаждение таких же корешков без электризации (10 минут)	44 92
Последующее пропускание постоянного тока	10 6
III. Излучение корешка, находившегося 10 минут в воде при температуре 18°, при последующем пропускании тока	70
IV. Излучение корешка при охлаждении (10 минут)	60
Последующее центрифугирование	6
Центрифугирование контрольного корешка	35
V. Луковая пленка после пребывания в течение 1 минуты во льду и наложения постоянного тока	5
Та же пленка после пятиминутного пребывания в воде при комнатной температуре (18°) и при наложении пост оянного тока	100
VI. Печень мыши:	
Одна половина, находившаяся в течение одной минуты в рингеровском растворе при 3°	79
Последующее центрифугирование	2
Вторая половина той же печени, подвергавшаяся центрифугированию	80
Последующее погружение в рингеровский раствор при 3°	2

3. Спектральный состав деградационного излучения

Эквивалентность различных факторов, вызывающих излучение в системах, не излучающих при физиологических условиях, позволяет объединить все описанные нами явления одним общим понятием деградационного излучения. Свообразие полу-

чаемых при этом спектров показывает, насколько различны процессы, лежащие в основе физиологического излучения (там, где оно вообще имеет место) и излучения при деградации.

Мы ограничимся пока несколькими указаниями общего характера и вернемся к спектральному анализу более подробно в дальнейшем.

1. Спектр деградационного излучения характерен для данной системы и для данного вида. Так, например, обнаружены резкие различия в деградационных спектрах четырех рас дрожжей (Биллиг) (рис. 12). Другими словами, деградационный спектр органа

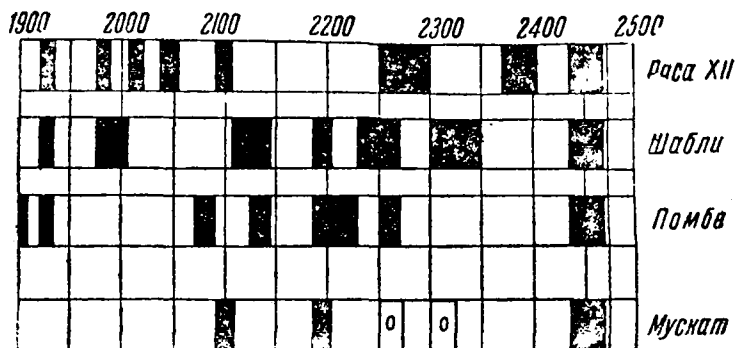


Рис. 12. Деградационные спектры четырех рас дрожжей. В четвертой строчке две полосы, обозначенные нулями, остались неисследованными (по Биллиг).

(ткани) отличается от спектра любого другого органа того же вида и от спектра того же органа другого вида.

2. Деградационные спектры одной и той же системы различны в зависимости от способа деградации. При применении тока спектры клеток с выраженной полярностью (клетки корешков) различны в зависимости от направления и характера тока.

Спектры деградационного излучения свежесрезанных корешков бобов в зависимости от различных способов воздействия

Обозначения:

I. 1 893—1 909 Å. III. 2 037—2 053 Å. V. 2 228—2 261 Å.

II. 1 961—1 976 Å. IV. 2 126—2 145 Å. VI. 2 352—2 379 Å.

Постоянный ток, наложенный в направлениях:

	нисходящем		восходящем		поперечном		переменный ток	
	(эффект в %)							
I.	10	10	9	42	80	-6	-2	
II.	72	45	6	-4	0	4	-2	
III.	38	74	10	-16	2	2	13	
IV.	15	21	50	-4	8	0	2	
V.	-2	-10	-5	50	18	63	46	
VI.	-3	0	7	-13	-8	11	3	

Охлаждение (5—6°)					Центрифугирование	
I.	0	—6	20	0	I.	—6
II.	2	0	—12	—14	II.	—5
III.	10	2	8	—7	III.	35
IV.	72	4	60	52	IV.	0
V.	—6	21	—3	22	V.	2
VI.	53	44	92	60	VI.	17

D. БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ И НЕРАВНОВЕСНЫЕ КОНСТЕЛЛЯЦИИ

1. Эволюция деградационных спектров при физиологических процессах

Мы видели, что неравновесные констелляции свойственны всем исследованным до сих пор растительным и животным системам. Мы можем поэтому с полным правом считать, что во всех живых системах представлены молекулярно упорядоченные констелляции, вообще говоря, неравновесного характера, причем в некоторых случаях преобладают констелляции, находящиеся в состоянии более или менее лабильной равновесности.

Это положение является, однако, само по себе лишь предпосылкой для дальнейших построений и имеет не большее значение, чем, например, в свое время положение Бютшли о всеобщности «пенистых» структур в протоплазме. Мы можем тем не менее показать, что именно эти молекулярные неравновесные констелляции и являются протоплазмами всех систем, понимая этот термин в указанном нами во введении смысле, и на этом мы и строим физиологическую теорию протоплазмы.

Действительно, как мы увидим, именно неравновесные констелляции являются той совокупностью материальных частиц, микрореакции которых составляют звенья наблюдаемого непосредственно жизненного проявления (макрореакции).

Доказательством этого положения является непрерывная эволюция спектрального состава деградационного излучения параллельно развитию того или иного, наблюдаемого и другими путями процесса.

Наблюдения могут проводиться на любом органе путем изучения его излучения при охлаждении, а на некоторых, легко доступных тканях и органах и прижизненно, особенно путем испытания излучения при наложении переменного тока ничтожной интенсивности.

При повторных опытах с возможно полным соблюдением одних и тех же условий воспроизводимость спектров, вообще говоря, удовлетворительная, но далеко не такая полная, как, например, при излучении эмиссионных спектров различных химических систем или излучения органов и тканей при нормальных физиологических обстоятельствах. Это одно уже указывает на чрезвычайно быструю и легкую смену состава неравновесных констелляций. Особенно трудно, конечно, получить спектр-эталон, соответствующий

щий «физиологическому» состоянию исследуемого органа, понимая под этим отсутствие произвольно подводимых внешних раздражителей, что, конечно, нисколько не гарантирует действительного тождества всех биологических условий в нескольких сравнимых случаях. Особенно это относится к органам с непрерывным и многосторонним метаболизмом, в частности, к печени и почке. Тем не менее, как видно из приведенного ниже экспериментального материала, при достаточном количестве опытов может быть достигнуто достаточное для наших целей постоянство спектрального состава как функция от того или иного состояния раздражения (возбуждения).

Считаясь с трудностью воспроизведения идентичных состояний, в большинстве случаев можно ограничиться «частичными» спектрами, т. е. установленным раз навсегда набором нескольких полос, которые могут быть получены одновременно. По чисто техническим соображениям, связанным с аппаратурой, мы в большинстве случаев останавливались на 6 полосах, соответствующих 1 960—1 915 Å, 2 037—2 021 Å, 2 126—2 107 Å, 2 228—2 206 Å, 2 352—2 326 Å, 2 500—2 467 Å.

Однако на почке и печени (отчасти) был проведен и полный спектральный анализ путем разложения всей митогенетической области на 30 пояса (5 снимков по 6 полос).

При применении холода животное (большой частью мышь) убивают декапитацией, и быстро отпрепарированный, еще теплый орган погружают в кварцевую камеру с охлаждением физиологическим раствором, уже установленную предварительно перед щелью коллиматора. Детекторы устанавливают предварительно перед выходной щелью спектрографа.

На печени кролика было проведено исследование деградационного излучения в процессе накопления гликогена и кокаина в печени (при подкожном введении глюкозы, и кокаина) и на живом животном, путем наложения тонких, гибких, слегка пружинящих платиновых электродов на небольшой обнаженный участок печени.

а) Спектр деградационного излучения слизистой оболочки пилорической части желудка (мышь).

Исследованию подвергалась слизистая оболочка пилорической части желудка, отпрепарированная немедленно по декапитации и предварительно быстро промытая в теплом рингеровском растворе. При экспозиции она натягивалась несколькими иглами на пробку.

Пищевой режим трудно установить заранее, за исключением предшествующего голода. Корм давался животному обычно за два часа до смерти, но количество пищи в желудке было очень различно (рис. 13).

Невозможность стандартизировать содержимое желудка объясняет разнообразие спектрального состава деградационного излучения, но делает вместе с тем довольно бесполезным более детальное изучение этого объекта.

Однако некоторые из приведенных в таблице спектров дали при двукратном повторении одинаковые результаты.

Во всяком случае мы видим, что разнообразие спектрального состава излучения, в зависимости от того или иного содержимого желудка, по меньшей мере не уступает разнообразию физиологических свойств желудочного сока по Павлову.

б) Деградиационное излучение почки мыши.

Почка мыши оказалась гораздо более благоприятным объектом для изучения деградиационного излучения. Правда, исходный стандарт, так называемую «норму», не удалось установить с полной воспроизводимостью, однако в 5 опытах из 8 получились идентичные спектры. При этом «нормой» служили мыши из одного гнезда, находившиеся на обычной смешанной пище и убивавшиеся между 11 и 12 часами утра.

Связь между функциональным состоянием почки и спектральным составом деградиационного излучения изучалась путем введения под кожу следующих трех веществ: метиленовой синьки, нейтральной красной и мочевины. Животных убивали

через различные промежутки времени и отпрепарированные почки немедленно погружали в охлажденный раствор Рингера. При введении красок выяснилось, что одинаковые прошедшие со времени инъекции промежутки времени еще не гарантируют идентичности гистологической картины почечного эпителия. Индивидуальные различия сказываются приблизительно до 60 минут после инъекции. В полном соответствии с этим находится и пестрота спектрального состава излучения в эти промежутки времени.

Тем не менее удалось подметить следующие закономерности, представляющие принципиальный интерес.

Уже через 10 минут после введения упомянутых веществ спектральный состав деградиационного излучения резко отличается от «нормы» и, повидимому, уже специфичен для данного вещества, как было обнаружено из сравнения спектров после введения мочевины, метиленовой синьки и нейтральной красной.

При этом состав спектра непрерывно закономерно эволюционирует и поэтому, например, спектры, снятые через 45—50 ми-

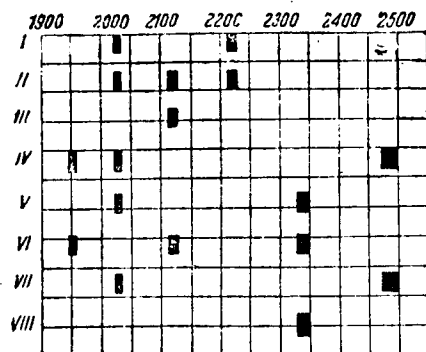


Рис. 13. Результаты испытания 6 полос спектра слизистой оболочки желудка мыши с различным пищевым содержанием. Испытывается дно желудка.

X — хлеб в большом количестве; x — хлеб в малом количестве; M — молоко в большом количестве; m — молоко в малом количестве; с — сено; о — пусто

Содержание пищеварительной части		Содержание дна желудка
I	X	X
II	M	M
III	о	о
IV	о	с
V	x	X
VI	x	X
VII	x	m
VIII	о	m

нут после введения веществ, резко отличаются от спектров, снятых через 10 минут.

Не менее замечательно, что при максимальном накоплении посторонних веществ в клетках деградационное излучение исчезает и появляется снова лишь через 2½ часа, повидимому, ко времени замирания волны выделения. Это наблюдение приобретает особое значение ввиду того, что оно повторяется также и при перегрузке печени (накоплении гликогена, см. дальше).

Деградационное излучение почки мыши при выделении мочевины

Время после инъекции в минутах	Эффект излучения (в %)
30	28
40	25
45	55
75	-6
90	0
90	0
120	-5
150	23
150	37

Степень воспроизводимости деградационного спектра почки (норма) (эффект в %)

Длина волны	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
1 960—1 945 Å	-4	5	2	-2	-18	-4	11	-5
2 037—2 021 Å	27	8	40	50	54	55	31	23
2 228—2 206 Å	61	34	9	-4	-2	14	27	-6
2 352—2 326 Å	0	14	-4	4	-2	0	2	-2
2 352—2 356 Å	-8	19	40	44	53	32	7	48
2 500—2 467 Å	22	25	-4	-2	-2	-9	6	-2

с) Функциональные изменения спектров деградационного излучения печени.

Наиболее детально изучены функциональные изменения деградационных спектров печени (Пономарева). Помимо применения охлаждения на переживающем органе, печень кролика представляет благоприятные условия для изучения эволюции спектров на живом организме путем наложения очень слабых переменных токов (порядка 0,0005 А при 4 V).

Исходным пунктом исследования является всегда испытание органа в «нормальном» состоянии, т. е. при обычном режиме животного. Конечно, нечего и думать о полном совпадении лицевого (режима) и в связи с этим химического состава печени у различных животных или у того же самого экземпляра в последующие дни. Тем не менее спектральный состав у 11 кроликов, исследованных при возможно одинаковых условиях, оказался доста-

точно постоянным. Вместе с тем введение под кожу сравнительно небольших количеств глюкозы или ничтожных количеств кокаина вызывает уже через 5 минут резкие сдвиги спектрального состава, хотя количество проникших в печеночные клетки за этот короткий промежуток времени веществ может быть крайне незначительным.

Это явное противоречие между стабильностью «нормальной» картины и чрезвычайной чувствительностью (при введении самых незначительных количеств хотя бы такого чисто физиологического вещества, как глюкоза, совместимо лишь со следующим основным положением.

Деградационные спектры, а следовательно, и неравновесные констелляции слабо или вообще не реагируют на медленные и постепенные колебания метаболизма (например, концентрации глюкозы), несомненно имеющие место при нормальном пищевом режиме животного. Но каждый резкий градиент, который наступает несомненно при подкожном введении веществ и отсутствует при обычных условиях питания, вызывает резкие отклонения, независимо от абсолютного достигаемого при этом уровня или концентрации. В полном соответствии с этим находится и тот факт, что при повторном исследовании накопления гликогена в печени не было обнаружено никакого параллелизма между его количеством и спектральным составом деградационного излучения (Шершевская).

Количество глюкозы, вводимой подкожно кролику, довольно значительно (до 0,5 г). Что касается кокаина, то резкие эффекты получаются уже при введении 0,00002 г. Если исходить из преувеличенного допущения, что через 5 минут резорбируется не больше половины введенного количества (и что приблизительно $1/2$ — $1/4$ этого количества накапливается в печени, и исходить из среднего объема печени и числа печеночных клеток, выводимого из этого объема, то расчет показывает, что при этом на долю каждой клетки приходится в среднем несколько десятков молекул кокаина.

Краткое сопоставление результатов исследований Пономаревой дает следующие результаты.

1. Спектральный состав деградационного излучения печени у кролика и у мыши различен.
2. Также различны и спектры, получаемые при охлаждении и наложении переменного тока у одного и того же животного.
3. Перегрузка организма глюкозой (четырекратное введение 0,5 на протяжении 2—3 часов) приводит к временному полному угнетению деградационного излучения.
4. При исследовании спектрального состава излучения живого кролика последовательно через каждые 5 минут по введению глюкозы спектральный состав непрерывно меняется и через 2 часа приближается к составу, соответствующему первым 5 минутам.
5. Спектральный состав типичен для данного вещества, т. е. различен при введении глюкозы и кокаина.

6. При одновременном введении обоих веществ состав спектральных линий представляет собой сумму спектров, получаемых при введении обоих веществ порознь.

Мы приведем несколько данных из обширного материала Писонаревой.

Излучение из печени живого кролика при подкожном введении глюкозы

А. Без наложения переменного тока эффект: +4%, -2%, -2,2%

Б. При наложении переменного тока (0,00005 Å).

Время после введения глюкозы

Длина волны	0 минут	3 минуты	5 минут	10 минут	15 минут
(средние величины из серий; эффект в %)					
1 960—1 945 Å	3	1	48	60	54
2 037—2 021 Å	34	45	7	4	68
2 126—2 107 Å	33	48	50	3	1
2 228—2 206 Å	1	0	50	61	72
2 352—2 326 Å	30	51	1	68	1
2 500—2 467 Å	4	1	1	59	57

В. При наложении переменного тока и введении порознь глюкозы или кокаина и обоих веществ одновременно

Длина волны	Глюкоза	Кокаин	Глюкоза + кокаин
	(эффект в %)		
1 945—1 935 Å	1	1,5	0
2 006—2 021 Å	51	-1	54
2 088—2 107 Å	42	-2	68
2 185—2 206 Å	1	1	2
2 300—2 326 Å	0	33	53
2 436—2 467 Å	0,5	43	54

Е. НЕРАВНОВЕСНЫЕ МОЛЕКУЛЯРНЫЕ КОНСТЕЛЛЯЦИИ КАК ОБЩАЯ ОСНОВА БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

Чисто энергетическая схема возникновения излучения при деградации, которой мы до сих пор ограничивались, должна быть дополнена более конкретными представлениями о последовательности и характере имеющих место отдельных процессов. Мы должны прежде всего составить себе представление о полном

цикле непрерывного перехода энергии, которая, согласно основному допущению, поставляется метаболизмом систем.

Основной чертой всего энергетического цикла является переход значительной части энергии экзотермических реакций в потенциальное состояние (потенциал неравновесных констелляций). Но, очевидно, допуская более или менее устойчивое, сбалансированное состояние систем, следует принять, что приток энергии к констелляциям, поддерживаемым на определенном энергетическом уровне, должен быть компенсирован непрерывной и равнозначной отдачей энергии теми же констелляциями. Однако, в противоположность акту отдачи энергии в момент деградации, непрерывное освобождение энергии констелляциями при физиологических условиях в большинстве систем не сопровождается излучением.

Этот факт требует, конечно, объяснения, и мы вернемся к нему в дальнейшем.

Прежде всего необходимо выяснить условия возникновения, а не отсутствия деградационного излучения.

Здесь мы должны исходить из следующих основных фактов.

1. Спектральный состав деградационного излучения резко отличается от физиологического эмиссионного спектра тех же систем (например, корешков), который при охлаждении немедленно исчезает.

2. Деградационное излучение не подвергается действию тушителя. В особенности убедительны в этом отношении опыты с корешками. Корешки погружают в слабый раствор гидролизованного тушителя, и констатируется полное подавление их физиологического излучения. После этого их переносят в такой же, но охлажденный раствор тушителя. При этом немедленно появляется излучение.

Последний факт исключает возможность возникновения деградационного излучения за счет экзотермических химических процессов, совершающихся в момент и вследствие охлаждения. Он совместим лишь представлениями об освобождении накопленной от предшествующих химических актов потенциальной энергии. Своеобразие деградационных спектров и отсутствие в них «физиологических» линий можно объяснить лишь следующим.

В момент «деградации» данной констелляции накопленная в ней на высоком потенциале энергия была локализована в некоторых из входящих в ее состав молекул и отдается ими непосредственно в виде фотона.

Тот факт, что спектральный состав при этом отличается от нормального, свойственного той же молекуле при обычных условиях, показывает, что при деградации данная молекула была достигнута в деформированном состоянии, обусловленном соседством других молекул, входящих в состав констелляции.

Мы видим, как близко мы подходим при этом к концепции Бауэра, который исходил из наличия в «живом белке» деформированных молекул и даже пытался объяснить возникновение ми-

тогенетического излучения возвращением этих молекул к нормальному энергетическому уровню¹.

Изложенные факты и соображения наталкивают нас на вопрос о взаимодействии между молекулами, входящими в состав констелляций.

Взаимодействие это таково, что, во-первых, пока оно существует, энергия или циркулирует по констелляции, или отдается не в виде фотона; во-вторых, молекулы в значительной степени действуют деформирующе друг на друга.

Так как мы противопоставляем констелляции молекулярным комплексам, в которых отдельные молекулы (или радикалы) связаны теми или иными силами взаимного притяжения, и вместе с тем констатируем, что отсутствие высвечивания обусловлено именно тем, что такие комплексы представляют энергетически одно нераздельное целое, то перед нами возникает вопрос: в чем же собственно выражается постулируемое нами «единство» молекулярных констелляций?

Единство в смысле распределения энергии является представлением, приобретающим за последнее время все большее значение. Оно применяется в отношении кристаллических решеток, если употреблять это выражение в самом общем смысле, т. е. приравнивая к ним и молекулярные комплексы однородных молекул. Так, например, в представлениях Воля, Гафрона, Йордана, сформулированных ими на основании данных Варбурга, следует допустить существование «единицы действия» приблизительно из 2 500 молекул хлорофилла. Такие единицы вызывают восстановление одной молекулы углекислоты (выделение одной молекулы кислорода), причем для этого акта требуется энергия четырех фотонов красного цвета, поглощаемых приблизительно одновременно этой единицей действия. Эта энергия, поглощаемая на всей территории единицы действия, и концентрируется в определенной точке, являющейся «местом восстановления» молекулы углекислоты.

Однако между такими единицами действия, включая сюда и высокомолекулярные соединения, и молекулярными констелляциями, с которыми мы имеем дело, очевидно, не существует глубокой аналогии. Действительно, в то время, как разрушение решеток является эндотермическим процессом, деградация констелляций, наоборот, сопровождается выделением свободной энергии. Общим для тех и других образований могут быть лишь чисто пространственные параметры (непосредственная близость молекул друг к другу), но никак не энергетические взаимоотношения. Другими словами, в то время как между элементами решетки (ионами или молекулами) существуют килы взаимного притяжения, на разрыв которых затрачивается энергия, молекулы (или в общей форме — элементы) неравновесных констелляций, повидимому,

¹ Это объяснение, конечно, совершенно неприменимо для других видов излучения, кроме деградационного, которое Бауэр не имел в виду, так как в то время оно было неизвестно.

сдерживаются (в непосредственном соседстве лишь путем затраты энергии, работающей против тенденции их к распаду).

Можно ли найти аналогии для таких комбинаций вне живых систем, другими словами, возможны ли убедительные неорганические модели, следует считать в настоящее время сомнительным. Можно привести лишь одну, чрезвычайно элементарную модель, которая может принести некоторую пользу.

Как показали новейшие, еще не опубликованные исследования (А. А. Гурвич), вторичное излучение затухает в очень тонких капиллярах (с просветом около 0,3 мм). Это и следовало ожидать ввиду того, что речь идет о разветвляющейся цепной реакции. Однако в умеренном электрическом поле (около 50 В/см) растворы белков хорошо проводят вторичное излучение. Единственным возможным объяснением является следующее.

Белковые молекулы, которые при этом необходимо представить себе не в глобулярном состоянии, а в виде цепей (нитевидными), в своем пристеночном слое в значительной степени ориентируются по направлению поля (продольному, т. е. параллельному капилляру). Эта ориентировка создает в некотором роде «соседские отношения» между молекулами, значительно повышающие вероятность передачи энергии в одном направлении, т. е. вдоль просвета, и снижающие вероятность обрыва цепей. Вместе с тем между молекулами действительная связь не устанавливается, так как одновременно с прекращением поля неупорядоченное тепловое движение устанавливает их первоначальное статистическое распределение в растворе.

Удалось, однако, пойти значительно дальше по пути создания моделей для общих энергетических уровней и кумуляции в них энергии. Совершенно те же результаты, которые были получены на растворах белков при наложении электрического поля, получаются в капиллярных трубках при течении разбавленных растворов белка со скоростью 1 м/сек.

Другими словами, на этих модельных опытах осуществляются постулируемые в живых системах (их неравновесных молекулярных конstellляциях) общие энергетические уровни, в которых циркулирует энергия, поглощенная теми или иными молекулами, входящими в состав конstellляций.

Эти модельные опыты приобретают большое значение в свете следующих соображений.

Так как из них вытекает, что для создания «упорядоченности», необходимой для цепной реакции, достаточно (сравнительно слабого поля, т. е. невысокого потенциала (или умеренной скорости течения), то можно представить себе, и даже является до известной степени вероятным, что и неравновесные конstellляции в живых системах поддерживаются сравнительно небольшой затратой энергии, но в то же время они способны поглощать высокую энергию рекомбинации радикалов, причем, как мы видели, эта энергия не высвечивается немедленно обратно до тех пор, пока конstellляция не нарушена. В ней же возможна, повидимому, и кумуляция не-

больших квант энергии (аналогия с хлорофиллом). Таким образом, при пресечении притока энергии, связанном, например, с охлаждением, или при механическом разрыве констелляции, ультрафиолетовые фотоны возникают не за счет энергии, затрачиваемой на поддержание самой констелляции, а вследствие того, что ряд молекул, входивших в состав констелляции, находился в состоянии электронного возбуждения, которое вызвано циркуляцией энергии, происходящей от элементарных актов рекомбинации радикалов и поглощаемой констелляцией.

Прямым выводом из этих соображений является положение, что мыслимы обстоятельства, при которых существуют неравновесные констелляции и отсутствует деградационное излучение. Теоретически такая возможность может, например, возникнуть в том случае, если рекомбинация радикалов затруднена или пресечена наличием тушителя и в то же время система продуцирует достаточно энергии для поддержания самой констелляции.

Мы стоим теперь перед проблемой величайшей важности, которую приходится трактовать чисто умозрительным путем, без непосредственной эмпирической базы. Сущность ее заключается в следующем.

Согласно самому определению неравновесных констелляций, они не могут возникнуть спонтанно, т. е. в результате взаимодействия между входящими в их состав молекулами. Действительно, молекулы могли бы установиться в определенные, упорядоченные констелляции только путем взаимного притяжения, хотя бы вандерваальсовыми силами. Но, конечно, в этом случае констелляции не были бы неравновесными и на их создание не затрачивалась бы, а, наоборот, при этом освобождалась бы энергия.

Если же приложение энергии приводит к пространственно упорядоченному распределению не связанных друг с другом взаимными силами молекул, то невозможно обойтись без представления о внешнем по отношению к данной констелляции факторе, который, если можно так выразиться, «прилагает» энергию, освобождающуюся при элементарных химических актах, к определенным группам молекул. При этом приложение энергии приводит к актам векторного характера, так как в результате молекулам навязывается определенное пространственное распределение.

Поэтому область возникновения неравновесных констелляций мы можем рассматривать как векторное поле.

Воздействие поля на молекулу можно себе представить лишь в виде слагаемой к мгновенному направлению ее неупорядоченного теплового движения. В каждом, достаточно малом участке поля всегда найдутся молекулы, которые, вследствие приложенных к ним приблизительно параллельных векторов поля, окажутся мимолетно в непосредственном соседстве друг с другом, т. е. войдут этим самым в состав констелляции. Таким образом, вовсе не предполагается какая-либо степень закрепления молекул в неравновесной констелляции. Последняя мыслится, наоборот, как результат чисто статистической вероятности моментальной

группировки молекул под воздействием поля. Их мимолетная непосредственная близость друг к другу, может, однако, иметь различные последствия.

Если молекула А поглотит квант энергии, она может ее передать соседней с ней молекуле В. В других случаях непосредственное соседство двух молекул может привести к установлению между ними более или менее стойкой межмолекулярной связи или, в известных случаях, и к химической реакции, например, полимеризации или конденсации. Последние два случая равнозначны выходу неравновесных констелляций из состояния неравновесности и их переходу в состояние «структур». Этот процесс будет, вообще говоря, необратимым и поэтому не имеет ничего общего со строго обратимым процессом депрадации в тесном смысле слова. В последнем случае мы должны представить себе действительный распад констелляций, т. е. возвращение молекул в обычное свободное состояние.

Таким образом, сущность нашего основного положения сводится к тому, что специальное, решающее значение в живых системах присуще не каким-либо особым молекулам или молекулярным категориям как таковым, т. е. охарактеризованным в последней инстанции чисто химическим строением, но определенным пространственным параметрам констелляций из молекул, составляющих в своей массе главную наличность субстратов живых систем, т. е. индифферентных в свободном виде, вне этих констелляций.

Г. АНАЛИЗ РЕАГИРОВАНИЯ КОНСТЕЛЛЯЦИЙ НА ВНЕШНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ

Мы видели уже, что во многих случаях живые системы (клетки) реагируют на отдельные квантовые или молекулярные акты. Под первыми мы подразумеваем поглощение одного или нескольких немногих квант, под вторыми — так называемые «олигодинамические» реакции немногих молекул. Примером первого рода являются разнообразные митогенетические эффекты, к олигодинамическим действиям мы можем причислить, в частности, наши результаты с введением кокаина.

Именно эти факты легли в основу нашего постулата упорядоченных молекулярных констелляций как необходимой предпосылки для цепных реакций, охватывающих всю систему. Вместе с тем анализ этих цепных реакций дает нам возможность составить себе несколько более конкретное представление о самих молекулярных констелляциях. Исходным пунктом анализа нам послужит специфичность этих реакций, исходящих из одного или немногих молекулярных актов (ср. реакцию почки и печени на введение различных тел).

Допустим, что речь идет о реакции системы на какое-либо сильно действующее химическое вещество, проникшее в клетку в количестве нескольких молекул.

Резкое изменение деградационного спектра показывает нам, что произошло и соответственное изменение неравновесной констелляции, взятой как целое. Если бы реакция ограничилась местным процессом, т. е. несколькими элементарными актами между проникшими молекулами постороннего вещества и молекулами констелляции, то она не могла бы привести к резкому изменению деградационного спектра.

Реакция между молекулой K (принадлежащей констелляции) и молекулой X (постороннее вещество) должна быть стартом цепной реакции, захватившей констелляцию и вызвавшей ее видоизменение, о чем мы судим на основании изменения деградационного спектра.

Если молекула K , отреагировав с X , превратится в KX , то тем самым изменится и ее воздействие на соседнюю молекулу K , т. е. совершится перераспределение внутренних связей и энергетических уровней молекулы K . Это новое состояние, которое мы обозначим как K' , должно явиться стартом для цепной реакции, имеющей своим содержанием переход $K \rightarrow K'$. Специфичность реакции будет, при прочих равных условиях, функцией от X .

Из этого соображения вытекает, что молекулярная цепь, по которой распространяется специфическая цепная реакция, берущая начало от K , из может состоять из различных молекул, мы должны представить ее состав однородным.

Однако этот вывод как будто несовместим с рядом фактов, в частности, с различиями деградационных спектров в зависимости от того или иного фактора, вызывающего деградацию.

Действительно, если констелляция представляет собой последовательность молекул K , о всех отношениях однородную на всем своем протяжении, то и распад ее, спонтанный при охлаждении или насильственный при применении механических факторов, не мог бы привести к возникновению различных осколков. В особенности несовместимы с этим результаты наложения тока, которые необходимо разобрать детально.

Так как при прохождении тока возникает излучение, а после этого охлаждение уже не сопровождается излучением, то несомненно, что упорядоченное распределение молекул (констелляция) оказалось нарушенным. Это нарушение может произойти различным образом.

1. Если представить себе, что сами молекулы, входящие в состав констелляции, несут заряд, то в результате прохождения тока они окажутся сбитыми у одной из стенок клетки, и их строй будет, конечно, при этом разрушен. Однако если исключить из того, что речь идет об однородной цепи, т. е. об одинаковых молекулах, то остается совершенно непонятным, почему направление тока будет иметь решающее значение для спектрального состава, возникающего при этом распаде цепи излучения.

2. Разнообразие спектров в зависимости от направления тока (и от его характера — переменный или постоянный) находит вполне естественное объяснение, если представить себе, что не все частицы (молекулы), входящие в состав констелляции, несут заряд, или что представлены частицы различных зарядов, или, наконец, что молекулы констелляций вовсе не заряжены, а носителями зарядов являются свободные частицы, не входящие в их состав. В первом случае частицы констелляций при наложении тока будут перемещаться относительно друг друга. Действительно, представим себе последовательность трех молекул A, B, C , из которых заряжена лишь B . В зависимости от направления тока B будет менять свое положение относительно A и C различным образом, что, конечно, повлечет за собой и различные последствия.

Представим себе теперь, что A, B, C не заряжены, но заряды несут крупные частицы X, Y , расположенные вне констелляций. Их продвижение в токе может иметь также различные последствия в зависимости от направления и характера тока: они могут прилипать в тех или иных местах к констелляции или своим напором разрушать ее в том или ином направлении.

Таким образом, мы приходим неизбежно к представлению, что констелляции не могут быть однородными во всех отношениях. Наоборот, данные с наложением тока на резко полярные клетки корешков как будто не оставляют сомнения в том, что констелляции имеют определенную ориентировку относительно клеточных осей, что они по длине клетки неоднородны и, принимая во внимание и различия при наложении поперечного или переменного тока, что они трехмерны.

Этот вывод можно совместить с таким же, повидимому, обязательным выводом об однородности цепи, по которой совершается цепная реакция, лишь при следующих условиях.

Мы должны выделить в констелляции однородную «основную» цепь или систему, по которой распространяется цепная реакция. Допущение это необходимо именно потому,

что без наличия цепной реакции реакция всей системы на одиночные квантовые или молекулярные акты остается необъяснимой. Цепная реакция, сохраняющаяся на всем протяжении своей специфичности, является лишь первым звеном реакции констелляций. Генерализованное возбуждение всей системы передается, по видимому, дальнейшим членам молекулярных констелляций, относительно которых не существует ограничения в смысле их однородности, но, наоборот, разнородность является по многим причинам крайне вероятной и даже постулатом. Для простоты, пока чисто фигурально, мы эти цепи будем обозначать как «боковые».

Понятие основной цепи вытекает из констатирования цепного характера определенного класса реакций, следующих за одиночными квантовыми или молекулярными процессами. Но нет достаточных оснований считать, что цепные реакции появляются в живых системах при всех воздействиях, на которые они вообще способны реагировать. Необходимость цепных реакций ограничивается лишь теми случаями, где «выход» реакции выше 1:1 или где строго локализованное воздействие распространяется на всю систему. Правда, деградационный спектральный анализ в значительной степени расширяет наши представления о границе чувствительности («реактивности») живых систем, но он же показывает, что реакция на проникновение в клетки ряда химических веществ, например, тулокозы, мочевины, витальных красок, обнаруживается лишь при концентрациях существенно другого порядка, чем, например, при олигодинамическом действии некоторых ядов, не говоря уже о квантовых процессах (возбуждение клетки при поглощении одного кванта ультрафиолета).

Мы можем поэтому представить себе реакции живых систем двух родов: 1) затрагивающие первично «основную» систему констелляций и 2) возникающие первично в боковых цепях.

Мы настаиваем при этом именно на различном первичном характере реакции в обоих случаях, так как в дальнейшем мыслимы, конечно, различные комбинации: ограничение реакции первичным актом, переход ее в том или другом направлении с основной системы на другую.

Нам представляется целесообразным обозначать реакции первого рода, затрагивающие первично «основную» систему, как «возбуждения», представляющее таким образом частный случай наиболее общего понятия «реакции». В дальнейшем перед нами может встать вопрос, из правильнее ли будет применять понятие «возбуждения» к тем случаям, где реакция ограничивается цепным процессом в основной системе, не переходя на боковые цепи. Этот вопрос приобретает актуальность специально при анализе реактивных процессов нервной системы (см. главу девятую).

В остальных биологических реакциях участие боковых групп вряд ли может быть подвергнуто сомнению.

Необычайно резкая и быстро эволюционирующая реакция деградационных спектров при воздействии на систему внешних по отношению к ней факторов является тем основным фактом, который заставляет нас рассматривать именно неравновесные констелляции как протоплазму данной системы (стр. 83).

Перед нами возникает теперь вопрос: какие изменения молекулярных констелляций лежат в основе эволюции деградационных спектров?

Ответить на него можно лишь предположительно, и мы постараемся взвесить объективно все представляющееся здесь возможным.

Мы исходили до сих пор из предположения, что своеобразие деградационных спектров объясняется тем, что в момент распада неравновесной констелляции освобождающиеся возбужденные мо-

лекулы деформированы и этим самым находятся на ненормальных энергетических уровнях.

Степень их деформации будет зависеть от характера пространственных взаимоотношений соседних молекул, которые можно коротко обозначить как «конфигурацию» констелляции.

Можно поэтому исходить из предположения, что реакция констелляций на внешние раздражения выражается в их пространственной перестройке.

Не следует, однако, упускать (из виду и другие возможности. До сих пор нам известны лишь реакции неравновесных констелляций на химические факторы воздействия (введение в организм посторонних химических веществ). Не лишено вероятия, что химические звенья вклиниваются и в тех случаях, где раздражителями являются не непосредственно химические агенты. Таково положение вещей, например, с сетчаткой и с нервными медиаторами.

Вполне естественно поэтому спросить себя: нельзя ли рассматривать реактивную эволюцию неравновесных констелляций как совокупность чисто химических процессов, т. е. как изменения их химического состава?

Нам кажется, что ряд обстоятельств делает крайне невероятной эту, чисто химическую интерпретацию и что все возможные или даже несомненные изменения химизма констелляций приводят к эволюции их спектров через посредство чисто пространственных параметров. Главным аргументом этой позиции являются следующие факты и соображения.

При подкожном введении, например, глюкозы или витальных красок, химические процессы как функция времени мыслимы лишь в виде постепенного нарастания концентрации веществ, образующихся как продукты возможной химической реакции. Так, в случае введения глюкозы в клетки печени постепенно нарастает скопление гликогена, и нет никаких оснований предполагать, что первые, проникающие в клетки порции глюкозы ведут себя по-другому, чем дальнейшие.

Между тем приблизительно через 5 минут после подкожного введения глюкозы деградационный спектр печеночных клеток начинает резко и быстро эволюционировать. При этом эволюция спектрального состава идет не тем путем, какой наблюдается при прогрессивных изменениях концентраций различных веществ, входящих в состав какой-нибудь смеси. Если бы речь шла о прогрессирующем изменении химизма констелляций, то следовало бы ожидать постепенного ослабления первоначальных и такого же постепенного появления новых полос деградационного спектра. Но, что является главным по крайней мере в примере с глюкозой, изменение спектра должно было бы быть однократным. Мы убедились, однако, в обратном, т. е. в непрерывной эволюции спектрального состава как функции от увеличения концентрации вещества, вступающего в реакцию (глюкоза—гликоген) или не реагирующего в клетке (мочевина, витальные краски).

Наконец, последним аргументом против чисто химического истолкования эволюции спектров является их резкий сдвиг при олигодинамическом воздействии химических веществ, как, например, при использованных концентрациях кокаина или при начальных концентрациях глюкозы в печеночных клетках (опыты Пономаревой). Здесь, как мы видели выше, решающей является цепная реакция субстрата, старт которой делается возможным благодаря химическим изменениям нескольких молекул. Содержание этой цепной реакции зависит в значительной степени от свойств реагирующей системы, но является в то же время и функцией от раздражителя, т. е. может быть неограниченно многообразным. Совместить этот факт с представлением о чисто химической природе цепной реакции какой-нибудь данной констелляции представляется, по нашему мнению, совершенно невозможным. Мы должны подумать о параметрах, совместимых с неограниченным разнообразием состояний системы, и здесь нам не остается выбора — они могут быть лишь пространственного, векторного характера, т. е. приводят к пространственной перестройке констелляций.

Мы вынуждены поэтому связать представление о констелляциях с их закономерными, неограниченно видоизменяемыми конфигурациями.

Попытаемся синтезировать наши представления о «протоплазме», складывающиеся из всех эмпирических данных и связанных с ними специальных соображений.

Реактивный аппарат, т. е. «протоплазма», живых систем складывается, вообще говоря, из неравновесных молекулярных констелляций, создающихся, восстанавливающихся и поддерживающихся полем данной системы. Эти констелляции мы обозначаем как актуальные, подчеркивая этим, что они не связаны с определенными, закрепленными молекулами, а являются как бы «геометрическим местом», заполняемым непрерывно сменяющимися элементами. Мы указывали уже во введении к этой главе, что понятие «реакция» и «реактивного аппарата» мы употребляем в самом общем смысле слова, рассматривая как реакции любые взаимоотношения между системой и окружающей ее средой, т. е. и совокупность процессов метаболизма (вхождение посторонних, в том числе и пищевых, веществ и выделение продуктов регрессивного метаболизма). Другими словами, совокупность доступных объективному исследованию жизненных проявлений рассматривается с одной точки зрения, общей и для типичных «реакций»; в силу этого неравновесным констелляциям принадлежит центральное место среди материальных субстратов живых систем.

Однако это вовсе не значит, что все протекающие в живых системах процессы во всех своих этапах связаны с неравновесными констелляциями.

С одной стороны, мы должны принять во внимание функциональное значение стойких внутряклеточных структур, которые во

многих элементах значительно преобладают над субстратом неравновесных молекулярных констелляций. Выключение их из понятия «протоплазма» вряд ли встретит особые возражения с обычной точки зрения. Но нас можно обвинить при этом в непоследовательности, так как именно многие из таких структур, например, миофибриллы, и являются адекватным субстратом реакций, т. е. по нашему определению «протоплазмой». Против этого трудно возразить что-либо с полной уверенностью, однако можно заметить следующее.

Весьма правдоподобно, особенно принимая во внимание ничтожную абсолютную интенсивность многих физиологических раздражений, что реакция таких высоко специализированных аппаратов, как миофибриллы, является лишь одним, притом конечным звеном длинной последовательности отдельных актов, берущих свое начало от поглощения той незначительной энергии, которая заключается в факторе раздражения. Наши положительные данные, касающиеся деградационных спектров и их эволюции в различных системах, дают нам полное основание экстраполировать и на специальный, разбираемый нами случай представление, что старт для всей последовательности реакций и ряда ее звеньев имеет место в неравновесных молекулярных констелляциях.

Помимо процессов в стойких структурных аппаратах клеток, не подлежащих непосредственному воздействию поля, мы должны, конечно, принять во внимание и ряд процессов, протекающих в неорганизованных или во всяком случае неупорядоченных молекулярно клеточных субстратах. Во всех случаях, где внутриклеточные процессы метаболизма несколько не отклоняются от того, что мы наблюдаем *in vitro*, мы не имеем основания предполагать непосредственное участие неравновесных констелляций. Но и здесь мы будем, вообще говоря, иметь полное основание для предположения, что процессы такого рода являются лишь отдельными звеньями в длинной цепи процессов, протекающих на основе неравновесных молекулярных констелляций, которые и определяют всю специфичность конечной реакции системы и обозначаются инами как «протоплазма» данной системы.

ГЛАВА СЕДЬМАЯ

КЛЕТЧНОЕ ДЕЛЕНИЕ

Основной митогенетический эффект, указывающий на зависимость акта клеточного деления от поглощения ультрафиолетовых фотонов, не может, конечно, не повлиять в очень значительной мере на нашу концепцию механизма клеточного деления.

Накопившиеся в течение ряда лет экспериментальные данные открывают в настоящее время некоторые возможности рационального подхода к анализу этого основного жизненного акта.

А. СТЕПЕНЬ ЗАВИСИМОСТИ КЛЕТОЧНОГО ДЕЛЕНИЯ ОТ ПОГЛОЩЕНИЯ ФОТОНОВ

Стимулирующее действие митогенетического облучения на клеточное деление не дает само по себе никаких данных для суждения о его роли в процессе деления. Точно такое же действие на клеточное размножение можно вызвать, например, и температурным фактором, который, конечно, тоже не является путеводной нитью для дальнейшего анализа, равно как и ряд химических агентов (например, по многим данным глутатион).

Роль того или иного фактора в таком сложном процессе, каким является деление, можно выяснить лишь путем постановки следующих, вполне определенных вопросов.

1. Является ли данный фактор безусловно необходимым во всех случаях клеточного деления?

2. Можно ли ему уделить вполне определенное место в цепи отдельных актов, из которых складывается весь процесс?

С самого начала работы в области митогенетического излучения первый вопрос являлся по понятным причинам одним из основных. Однако мало-мальски удовлетворительный ответ получен нами лишь за последние годы.

Вообще говоря, первой задачей было возможно многостороннее, экстенсивное обследование самых различных объектов с клеточными делениями с целью установления во всех случаях наличия излучения. Если хотя бы на одном объекте было с достоверностью установлено отсутствие излучения, то поставленный вопрос был бы разрешен в отрицательном смысле, т. е. следовало бы признать, что излучение не является необходимым для деления фактором.

Обследования не обнаружило до сих пор таких отрицательных фактов. Наоборот, и в тех случаях, где а priori не было достаточных оснований предполагать наличие излучения, оно всегда могло быть обнаружено. Это относится, например, к одноклеточным организмам, в достаточной степени изолированным друг от друга (например, инфузориям), или к яйцам, свободно развивающимся в воде без непосредственного соседства с источниками излучения, и к культурам тканей.

Особенно интересны результаты предпоследней категории: благодаря работам Франка и Залкинда, Франка и Курепиной, Залкинда и Дорфмана и Шмерлинг.

Всеми этими авторами был установлен факт излучения яиц морских ежей после осеменения и в процессе дробления, причем явление это носит периодический характер, т. е. достигает максимума незадолго до начала каждого дробления и фактически отсутствует или крайне слабо во время самого акта деления.

Так как яйца морских ежей способны к делению и при полной изоляции друг от друга, например, при наличии лишь одного яйца в культуре, то, если придавать значение (а тем более решающую роль) излучению, приходится признать, что в данном случае речь идет о самооблучении, т. е. воздействии собственного излу-

чения на яйцо. Однако Франком и Курепиной установлен очень интересный факт: яйца-одиночки развиваются гораздо хуже, чем в том случае, если в висячей капле их несколько десятков. Разница выясняется с особой резкостью в тех случаях, где культуры находятся не в оптимальных условиях (например, недостаточно низкая температура для арктического вида яиц с оптимумом около 9°). Мы приводим одну из таблиц авторов.

Возраст после оплодотворения	Количество яиц в висячей капле	
	1--2	6--20
	Состояние зародышей	
	Среднее из 10 капель	Среднее из 3 капель
8 часов 45 минут	75% в стадии 8 бластомеров	100% переход к 16 бластомерам
60 часов	25% переход к 16 бластомерам 92% мертвы	2% слабое дви- жение 98% оживленное движение
	80% слабое дви- жение бластул	

Толкование этих интересных данных не может, конечно, быть вполне однозначным. Мы должны считаться с двумя возможностями: взаимодействием яиц химического характера или путем взаимного облучения.

Первая возможность представляется менее вероятной, главным образом в силу того, что благоприятное взаимодействие проявляется именно при неблагоприятных для культуры обстоятельствах: пришлось бы при этом признать усиление выделения стимулирующих веществ. Если же стать на ту точку зрения, что стимулирующим фактором является излучение яиц, то можно остановиться на более правдоподобном толковании результатов, стоящем в полном согласии с совокупностью данных о митогенетическом эффекте.

При оптимальных условиях собственное излучение более или менее удовлетворяет потребность яйца в фотонах. Поэтому излучение, исходящее от соседних клеток, там же бесполезно, как это, например, констатировано для дрожжевых и бактериальных культур в периоде оптимального роста. При ослаблении жизнедеятельности яиц, конечно, вполне естественно ожидать и заметного падения интенсивности излучения, а так как значительная часть (статистическая половина) фотонов пропадает для самого излучающего яйца, но может быть поглощена одним из соседних, то значительный эффект непосредственного соседства яиц объясняется вполне естественным образом.

Исследование ряда других объектов, например, эксплантатов и т. д., всегда обнаруживало наличие излучения в те периоды, когда констатируется клеточное размножение (Хрущов).

Однако во всех этих совпадениях нельзя еще видеть доказательств необходимости излучения для клеточного деления. Прямое доказательство стало возможным лишь благодаря открытию

тушителей (или тасителей). Если правильно положение, что для размножения предоставленного самому себе клеточного комплекса необходимо его собственное излучение, то, конечно, при подавлении последнего должно прекратиться и размножение.

Однако такой результат был бы еще не вполне однозначен, так как совершенно невозможно исключить чисто химическое, токсическое воздействие тушителя на общие жизненные процессы в клетке.

Действительно, решающим является дальнейшее продолжение такого опыта. Облучение клеточного комплекса, в котором подавлено тушителем собственное излучение, должно восстановить клеточное размножение. При этом необходимо еще установить специальными контрольными опытами, что применяемое облучение не разрушает тушителя.

Обширные, выполненные по этой программе исследования на различных объектах дали в общем удовлетворительные результаты: практически решающее значение лучевого режима клеточного комплекса для клеточных делений можно считать теперь в принципе доказанным. Однако далеко не всегда эффект применяемых агентов сказывается с полной определенностью, повидимому, вследствие ряда привходящих обстоятельств, которые удалось до настоящего времени в значительной степени выяснить.

Для полной оценки полученных результатов необходимы некоторые предварительные данные.

В. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ПРОЦЕССА КЛЕТОЧНОГО ДЕЛЕНИЯ

Так как непосредственные наблюдения над течением митозов удаются лишь на немногих объектах, то в ряде случаев, и, в частности, в применении к особо важным для нас объектам, приходится прибегать к косвенным методам, представляющим, однако, особый интерес ввиду того, что они позволяют составить себе представление о скорости реакции деления на изменившиеся внешние условия.

Особенно удобно в этом отношении применение внезапного охлаждения. Приостановка течения митозов при низких температурах — общеизвестный, давно установленный факт. В последней, посвященной этому вопросу работе Букчианте (Bucciantè) было установлено для фибробластов цыпленка на культурах тканей, что длительность митоза при оптимальной температуре (40°) порядка 15 минут, при 20° — свыше 4 часов.

Если охладить один глаз живой лягушки до 2—5°, в то время как само животное и второй глаз находятся при комнатной температуре, т. е. при 16—18°, и зафиксировать оба глаза немедленно после 5—10-минутного охлаждения, то на холодном глазу количество митозов, как правило, в среднем на 30% больше, чем на контрольном (Пономарева).

Этот результат допускает лишь одно толкование: число митозов, регистрируемых на фиксированном препарате, пропорциональ-

но дроби $\frac{t}{t+T}$, где t — длительность митоза и T — интеркинеза¹.

Поэтому если при охлаждении замедляется ритм митозов, т. е. нарастает величина числителя, то число митозов также соответственно увеличится, так как t в знаменателе можно пренебречь ввиду очень большой величины T по сравнению с t . Если за 10 минут длительность митоза может увеличиться на $\frac{1}{3}$ (причем митоз лишь замедляется), то 30 минут являются верхним пределом длительности митоза.

Мы можем, однако, изменить положение вещей, т. е. исходить от низких температур и подвергать один глаз нагреванию до 15—20°. В этом случае уменьшение числа митозов по сравнению с холодным глазом мы должны будем трактовать как ускорение ритма.

Эти простые опыты дают нам возможность правильной оценки непосредственных результатов облучения эпителия роговицы лягушки.

При облучении в продолжение 3—5 минут (при комнатной температуре) и немедленной фиксации глаз сдвиг в числе митозов по сравнению с контрольными достигает 30—40%. Из этого мы можем сделать два вывода чрезвычайной важности:

1) длительность митоза при комнатной температуре не превосходит 10—12 минут;

2) изменение лучевого режима детектора влияет на самый ритм митозов; другими словами, наша первоначальная формулировка влияния облучения на клеточное деление заменяется новой и более всеобщей.

Понятие стимуляции клеточного деления путем облучения надо толковать не только в смысле возбуждения преждевременных митозов, но и в смысле влияния на самый ритм, т. е. скорость процесса деления.

При ближайшем исследовании этих явлений мы наталкиваемся на чрезвычайно сложные и до сих пор еще не вполне разгаданные явления.

При облучении глаза лягушки в течение 3 минут Пономарева установила на серии из 8 опытов следующие данные:

	Спиремы	Метафазы	Анафазы	Телофазы
Облученный глаз . . .	337	1 205	556	570
Контрольный » . . .	401	987	348	380
	—17%	+33%	+60%	+50%

При таком же облучении в течение 5 минут получается существенно иная картина:

	Спиремы	Метафазы	Анафазы	Телофазы
Облученный глаз . . .	81	254	179	147
Контрольный » . . .	199	563	385	232
	—45%	—55%	—51%	—36%

¹ Действительно, вероятность застать какую-нибудь данную клетку в состоянии митоза пропорциональна длительности митоза и обратно пропорциональна длительности интеркинеза + длительности митоза.

Едва ли может подлежать сомнению, что резкий перелом от замедления к ускорению ритма деления является не непосредственной функцией от количества поглощенных фотонов, но следствием цепных реакций, возникающих при этом и сильно изменяющих весь режим. Вероятнее всего решающее значение здесь имели очень значительные различия в абсолютных числах митозов в той и другой серии.

Бедность митозами второй серии делает очень вероятным, что и собственный митогенетический режим был сравнительно слабый. Поэтому облучение, влекущее за собой усиление режима в данных случаях, имело положительный эффект в смысле стимуляции ритма деления.

В первой серии с большим количеством митозов можно предположить насыщение лучевого режима уже до облучения и поэтому угнетающее действие последнего.

Для нашей непосредственной задачи имеет значение лишь самый факт тесной зависимости ритма деления от интенсивности лучевого режима и чрезвычайная скорость реакции, т. е. отсутствие измеримого латентного периода. Это заставляет, конечно, предположить близкую непосредственную связь между поглощением фотона и ходом процесса деления.

Совершенно аналогичная непосредственная реакция на облучение была обнаружена еще раньше Залкиндом на дрожжевых культурах в жидкой среде. Для будущей оценки результатов воздействия тушителя большое значение приобретает следующее соображение.

Если ритм митоза так сильно зависит от лучевого режима объекта, то естественно предположить, что при подавлении его собственного излучения путем применения тушителя будут крайне замедлены или (даже) вовсе приостановлены застигнутые на ходу митозы. Если исследование происходит по истечении немногих часов после подавления излучения, то замершие митозы могут еще сохранить в известной степени нормальную морфологическую структуру. В этих случаях наличие митозов еще не может служить опровержением или отрицанием тормозящего действия тушителя.

Для испытания ритма деления, т. е. выяснения, имеем ли мы в том или ином случае дело с замершими митозами, можно прибегнуть к охлаждению одного из испытуемых объектов, сохраняя контроль к нему при нормальной температуре. В том случае, где охлаждение не вызывает сдвига в числе митозов, можно сделать вывод, что их ритм во всяком случае настолько замедлен, что время примененного охлаждения составляет лишь незначительную дробную часть всей длительности процесса.

Такие испытания показали с полной ясностью правильность предположения, что пресечение излучения (путем применения тушителя) приводит немедленно к полному замиранию митозов.

Приводим выдержку из данных Пономаревой.

Охлаждение одной роговицы лягушки до 2° в течение 10 минут после введения тушителя в лимфатический мешок:

	2°	19°	Разница (в %)
Число митозов	788	765	3
	1125	955	7

Такие же опыты без введения тушителя:

	2°	19°	Разница (в %)
Число митозов	518	341	47
	208	140	49

Мы видим из этих данных, что цикл деления при нормальных обстоятельствах не превышает 20 минут, после введения тушителя промежутки времени в 10 минут так мал по сравнению с циклом деления, что последнее можно считать фактически замершим¹. При оценке влияния тушителя на ход митозов мы должны считаться с этим обстоятельством.

С. ДЕЙСТВИЕ ОБЛУЧЕНИЯ НА ЗАМЕРШИЕ МИТОЗЫ

Из всего предыдущего вытекает, что есть основания для предположения, что замершие вследствие холода или подавления излучения митозы могут быть стимулированы путем облучения извне.

Это ожидание осуществляется в гораздо большей степени, чем можно было предположить, так как облучение нацело компенсирует угнетающее действие охлаждения (Ю. Н. Пономарев).

При облучении охлажденной роговицы получается чрезвычайно яркий митогенетический эффект, выражающийся в том, что число митозов на охлажденном глазу, превышающее при обычных условиях их количество при нормальной температуре в среднем на 30%, показывает непосредственно после облучения значительный дефицит по сравнению с контрольным глазом, находившимся все время при оптимальной температуре.

Другими словами, митозы охлажденного глаза, при обычных обстоятельствах почти нацело замирающие, при одновременном облучении протекают гораздо быстрее, чем в глазу, находящемся при оптимальных условиях.

Охлаждение без одновременного облучения

Контрольный глаз при 25° (О—охлаждение, К—контроль, Э—эффект)

Температура опытного глаза					
5°			15°		
О	К	Э	О	К	Э
852	346	+ 146%	875	867	1%
731	517	+ 33%	835	857	- 3%
1567	1235	+ 26%	Здесь следует обратить внимание на постоянство ритма деления в пределах оптимальных температур (от 15° до 25°) (по Пономаревой)		
1369	1072	+ 27%			
802	510	+ 48%			

¹ Нет оснований для предположений, что митозы лягушки вполне замирают при 2—5°, и поэтому вычисленная длительность нормального митоза, равная, 20—30 минутам, сильно преувеличена, как вытекает из опытов с облучением где 3 минуты вызывают сдвиг в среднем до 30%, т. е. длительность митоза порядка 10 минут.

Комбинация охлаждения и одновременного облучения
Охлаждение 10 минут при 5°; контроль при 25° без облучения

Облученный	Контрольный	Эффект (в %)
487	695	— 30
205	219	— 6
1 031	1 523	— 32
700	1 159	— 39
767	978	— 21
1 604	1 994	— 20
225	906	— 76
335	408	— 19
392	611	— 37

Мы видим, таким образом, что при облучении охлажденного глаза в течение 10 минут совершается переход от + 30% до —30% (в среднем), т. е. ускорение ритма по крайней мере на 60%.

Результат этот является, несомненно, неожиданным и проливает некоторый свет как на механизм предпосылки митоза, так и на решающую роль в нем митогенетического облучения.

Замедление и замирание митозов при охлаждении могут быть сведены исключительно к снижению или приостановке процессов нормального метаболизма, главным образом ферментативного характера. Высокий температурный коэффициент большинства ферментов хорошо известен и проявляется с большой яркостью и на митогенетическом излучении, сопровождающем ферментативные реакции. Для правильной оценки эффекта облучения необходимо принять во внимание, что стимулирующее действие облучения в данном случае распространяется лишь на продвижение процессов деления, в большинстве случаев уже застывших охлаждением на полном ходу, и притом лишь на протяжении 10 минут. Было бы поэтому совершенно неправильным заключать из яркости достигнутого облучением эффекта, что оно может явиться полной и длительной заменой процессов метаболизма. Но вместе с тем результаты опытов показывают с полной очевидностью, что механизм деления находится под полным контролем облучения, что в данном случае представляет для нас наибольший интерес.

D. ВЛИЯНИЕ ПОДАВЛЕНИЯ ИЗЛУЧЕНИЯ

Излучение может быть подавлено введенным в клетки как различных тушителей, так и гасителей (ср. главу 10).

Мы уже указывали, что результаты подавления излучения будут очень различны в зависимости от ряда обстоятельств.

В меристемах с медленным течением клеточных делений и с медленной реакцией на облучение последствия угнетения излучения могут сказаться лишь сравнительно поздно, по прошествии нескольких часов. К этой категории относятся, например, растительные корешки.

Уже самые первые опыты в области митогенеза показали, что первый эффект облучения обнаруживается не ранее чем через 1 час по облучении. Длительность митозов здесь порядка одного часа, длительность интеркинеза предположительно по крайней мере 12 часов, если не больше.

Если принять при этом во внимание, что первым непосредственным результатом тушения или гашения будет значительное замедление и без того медленно протекающих митозов, которое увеличит их количество в препарате, то станет понятным, что действительно резкий эффект в смысле уменьшения числа митозов может наступить лишь через много часов после введения тушителя или гасителя.

В то же время при этих условиях может вмешаться ряд новых, осложняющих факторов.

Во-первых, следует ожидать по ряду соображений, что много-часовое лишение меристемы излучения может оказать воздействие, помимо акта деления, и на процессы основного метаболизма. В этом случае постепенное исчезновение митозов будет уже не первичным, непосредственным следствием подавления излучения, а скорее результатом ряда изменений в обмене веществ.

Во-вторых, возможно также и некоторое чисто токсическое воздействие тушителей и гасителей на клетки, если речь идет о многочасовом применении.

В-третьих, становится технически невыполнимым решающий контрольный опыт специфичности действия тушителей, заключающийся в одновременном облучении объекта, компенсирующем выпадение собственного излучения.

Наконец, не исключена возможность, и в некоторых случаях даже не лишено вероятности, что тушители и гасители постепенно разрушаются живыми системами или что последние вырабатывают по отношению к ним некоторый иммунитет.

Все эти обстоятельства чрезвычайно осложняют получение однозначных результатов при подавлении излучения на объектах вроде корешков. Решить вопрос удалось главным образом на дрожжевых клетках и роговице.

Наиболее просты и убедительны первые по времени опыты Залкинда, которые, строго говоря, решают принципиально проблему в положительном смысле.

Тушитель из раковой крови [перенос в гликоколе любого порядка (глава 10)] прибавляется в определенном отношении к культуре дрожжей в пивном сусле; через полчаса определяется размножение клеток в подопытной и контрольной культурах.

Мы приводим средние из обширной серии в 16 опытов (по Залкинду).

Прирост культуры без тушителя за 30 минут	Та же культура с тушителем за 30 минут	Та же культура с туши- телем, инактивирован- ным нагреванием
25%	1,1%	22%

Прирост культуры с тушителем за 30 минут при облучении в течение первых 45 секунд (в %)

33
31
30
32
29

Размножение культуры за 30 минут при прибавлении тушителя, который предварительно облучался 45 секунд (в %)

2
9
3
6
— 4

При одновременном действии тушителя и облучения в первые 45 секунд по прибавлении тушителя размножение культуры протекает нормально. Контрольными опытами устанавливается, что тушитель от соответственного кратковременного облучения не разрушается. Следует отметить, что в данном случае возможно приращение непидрозированного тушителя ввиду того, что решающую роль в лучевом режиме дрожжевых клеток играет, по видимому, не внутриклеточное излучение, а излучение питательного субстрата (сусла) под влиянием выступающих из клеток или расположенных эпиделлюлярно ферментов.

Значение этих чрезвычайно убедительных опытов не умаляется от того, что действие тушителя довольно мимолетно. Приблизительно через полчаса по его прибавлении к дрожжевой культуре в ней появляется снова излучение и одновременно с этим начинается и размножение клеток, и к концу первого часа оба процесса уже на полном ходу. Вторичное прибавление тушителя к культуре уже не оказывает прежнего действия.

Идет ли здесь речь о приобретении иммунитета или о других осложняющих обстоятельствах, остается пока еще недостаточно выясненным.

По скорости реакции на прибавление тушителей и гасителей с дрожжами сравним эпителий роговицы лягушки и мыши. Однако здесь выступают два новых момента: 1) воздействие на излучение возможно только при условии проникновения угнетающего агента в клеточное тело; 2) в то время как в опытах с дрожжами возможен учет прироста, т. е. (количества клеток, в эпителии эффект может быть обнаружен лишь путем подсчета числа митозов.

Мы видели, однако, что при этом результат затемняется наличием двух идущих наперекрест друг другу факторов: 1) с одной стороны, угнетающее действие тушителей на процесс возникновения новых митозов, приводящее через некоторое время к уменьшению их количества; 2) с другой стороны, при подавлении излучения замедляются или даже замирают застигнутые на ходу митозы, что приводит к увеличению наличного в момент фиксации количества митозов.

Ввиду последнего обстоятельства полное исчезновение митозов при введении тушителя очень мало вероятно.

Тем не менее удалось достигнуть чрезвычайно ярких результатов.

Основные опыты Пономаревой были выполнены еще до получения гидролизованного тушителя. Поэтому для введения тушителя в клетки приходилось прибегать к ионтофорезу при помощи очень слабых токов порядка десятков микроампер.

Однократное введение тушителя в течение приблизительно 15 минут с немедленной последующей фиксацией приводит к увеличению числа митозов. Это не является неожиданным, так как речь идет здесь преимущественно о торможении их нормального течения.

Исходя из того, что по прежним данным наиболее резко выраженный эффект облучения на роговице наблюдался приблизительно через 4 часа после облучения, в ряде опытов было выдержано то же время и после однократного введения тушителя. Во всех случаях было обнаружено угнетающее действие тушителя, но в очень неравной степени. Так, например, в 8 случаях эффект (т. е. отношение числа митозов на контрольном глазу по сравнению с подопытным) был не более 2:1 (т. е. 100%); наряду с этим были зарегистрированы случаи с эффектами 10:1, 11:1 и даже 15:1. Мы приводим эти последние цифры:

Контрольный глаз . . .	755	740	348
Глаз с тушителем . . .	78	68	23

Эти резкие индивидуальные колебания в отношении отдельных экземпляров к действию тушителей настолько характерны для самых различных объектов, что заслуживают особого внимания. К этому вопросу мы еще вернемся в дальнейшем.

Гораздо постояннее результаты при многократном кратковременном введении тушителя с перерывами. Так, в серии опытов с восьмикратным введением тушителя в течение 5 минут и перерывами в 25 минут Пономаревой получены следующие результаты:

Число митозов	
контроль	тушитель
450	32
384	21
138	52
313	10
81	5

Инактивированный нагреванием тушитель	
244	237

Последний (контрольный) опыт, повторенный неоднократно, показывает, что сам ионтофорез и введение постороннего тела в клетки не влияют на ход размножения.

Не менее яркие результаты были получены и при использовании в качестве тушителя сильно разбавленных (0,001%) растворов фурфурола¹, особенно в комбинации с гасителем (Пономарева).

¹ Обоснование применения фурфурола будет дано ниже.

Подобно дрожжевым культурам, эпителий роговицы допускает контрольные опыты с комбинированным применением тушителя и компенсацией его действия облучением.

Контроль	Опыт
693	98
1785	89
658	82
388	30

Соответствующие опыты (Пономарева) производились следующим образом: оба глаза лягушки купались 8 раз (по 10 минут) в растворе фурфурола с перерывами в 25 минут. Немедленно после каждой ванны один глаз подвергался облучению интенсивным митогенетическим источником в течение 10 секунд.

При фиксации после 8-го купанья обнаружались следующие данные:

Облученный глаз	Необлученный глаз
224	78
186	51

Эти результаты имеют принципиальное значение, так как в них содержится неопровержимое доказательство, что фурфурол, помимо некоторой токсичности, является и тушителем.

Правда, нельзя с уверенностью сказать, доведено ли число митозов путем облучения до нормы, т. е. снято ли им влияние фурфурола нацело, как это имеет место в опытах Залкинда с дрожжевыми культурами. Но в то же время следует отметить, что эффект облучения необычайно высок (достигая почти 300%), в то время как на нормальных роговицах путем облучения можно достичь эффекта самое большее 60—70%.

Обозревая все данные о влиянии подавления излучения на клеточное размножение в роговице, мы имеем все основания утверждать, что основной тезис—безусловная необходимость наличия лучевого режима в меристемах для клеточного деления—несомненно себя оправдывает. Тот факт, что всегда сохраняется несколько десятков митозов, естественнее всего свести на известное нам уже явление—замирание митозов.

Обширные исследования действия тушителей и гасителей на растительных, преимущественно луковых, корешках проведены Васильевой и Владимирской.

На этих объектах с особенной яркостью проявляются индивидуально выраженные различия в поведении отдельных корешков одной и той же луковицы, подвергшихся общему воздействию и зафиксированных одновременио. Так, например, в одном из опытов с воздействием фурфурола в течение суток из трех взятых наудачу корешков приблизительно одинаковой величины два оказались совершенно лишенными митозов (0 и 2), третий обнаружил 294 митоза¹. Такие случаи не особенно редки и не имеют ничего

¹ На 5 центральных срезах.

общего с колебаниями числа митозов нормальных корешков одной и той же луковицы, не превышающими 30—40%.

Резкие результаты воздействия получены Васильевой при применении растворов фурфурола (0,045%) уже после 12 часов. Мы приводим два наиболее ярких примера.

	Фурфурол	Контроль (вторая половина луковицы в воде)
Первая луковица . .	34	901
	42	734
Вторая луковица . .	14	366
	18	366
	25	469
		527

Пребывание в фурфуроле было продолжено до 96 часов, после чего луковица с оставшимися корешками переводилась обратно в воду. Из исследованных через 24—72 часа 11 корешков этой категории 8 вполне оправились и по числу митозов не уступали норме. Число митозов до отдыха упало в этих случаях до минимума. Мы приводим числа одного из этих опытов.

	Число митозов на 5 срезах					
Корешки после 93 часов фурфурола	4,	7,	2,	1,	0,	3, 2
Корешки после 93 часов фурфурола и суточного отдыха	0,	228,	318,	1,	0,	247

Следует отметить, что те крайне немногочисленные митозы, которые сохраняются после длительного воздействия фурфурола, находятся в состоянии полной дегенерации или, вернее, инволюции.

Из того факта, что корешки в большинстве случаев переносят пребывание в фурфуроле в течение 4 суток, можно сделать вероятное предположение, что 12-часовое пребывание, при котором сказывается очень резкий эффект угнетения (во многих случаях полное исчезновение митозов), не является результатом токсического воздействия фурфурола, а именно его тушащих свойств.

Контрольные опыты с параллельным облучением корешков во время пребывания в фурфуроле по техническим причинам невыполнимы.

Результаты с применением ракового тушителя и гасителя (Владимирская) дали несколько менее резко выраженные, хотя все же очень ясные результаты угнетающего действия.

Мы приводим две наиболее удачные серии на двух луковицах (I и II).

	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
I	356	66	II	356
	288	69		284
	393	47		233
				93
				31
				84
				76

Интересно отметить, что колебания в числе митозов при применении ракового тушителя гораздо более значительны, чем при работе с фурфуролом. Так, например, в одной серии с постоянным числом митозов в контроле (319, 312, 332) пять подопытных корешков дали числа 59, 273, 41, 423, 32.

Длительное воздействие тушителей и гасителей на корешки приводит, помимо угнетения митозов, к еще одному чрезвычайно интересному последствию, находящему объяснение в стимуляции облучением пептидного синтеза.

Уже после 12-часового пребывания в фурфуроле (несколько менее выражено в тушителе) большинство даже молодых меристемных клеток, обычно заполненных плазмой, сильно вакуолизировано и во многих случаях все тело клетки представляет собой одну сплошную вакуоль. Картина вполне аналогична в переживающих корешках бобовых, у которых отрезаны семядоли и в которых в течение первых суток также обычно замирают и митозы. Естественнее всего свести это явление на голодание клеток, потребляющих много пластического материала при непрерывных делениях. В случаях применения тушителей можно убедиться в полной обратимости этого явления после соответствующего отдыха.

Помимо корешков, угнетающее действие тушителей и гасителей было испытано на ряде других объектов. Биллиг констатировала очень резкое угнетение размножения парameций и прорастания плесеней под влиянием гидролизованного тушителя и в более резкой степени при применении фурфурола; Песоченский получил в ряде серий резкое отставание роста в культурах тканей. Особенно благоприятны были в данном случае результаты с применением комбинации гидролизованного тушителя с гасителем. Наконец, Залкинд констатировал в ряде случаев значительное замедление, а в нескольких случаях почти полную приостановку развития яиц амфибий.

Однако ни одно из трех последних исследований не может считаться законченным, и вместе с тем приходится отметить в большинстве из них некоторое непостоянство результатов, аналогичное тому, которое выступает с особенной ясностью на растительных корешках.

Удовлетворительное объяснение этого резко индивидуального отношения различных экземпляров одной и той же серии (например, отдельных эксплантатов в серии из 10 препаратов) до сих пор еще не получено.

Некоторые явления наводят на мысль о том, что все применяемые до сих пор вещества в большей или меньшей степени инактивируются (разлагаются) протоплазмой и что в силу сопротивляемости отдельных клеток, а тем более особей, существуют значительные колебания.

Г. МЕХАНИЗМ МИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫХ ФОТОНОВ

Анализ так называемого митогенетического эффекта, взятого как чисто статистический феномен, и самого механизма действия ультрафиолетовых фотонов на ход клеточного деления ставит различные задачи и проводится различными путями.

В первом случае речь идет о зависимости собственного лучевого режима детектора от количества и ритма подачи облучения извне. Законы этих зависимостей оказываются чрезвычайно сложными и еще очень мало выяснены. Еще более трудно составить себе конкретное представление о лучевом режиме какой-нибудь отдельной клетки.

Здесь приходится удовлетвориться чисто статистическими, притом очень грубыми расчетами средних величин.

Ввиду этого для дальнейшего анализа нашей второй проблемы в нашем распоряжении лишь данные самого общего, приближительного порядка.

Из совокупности всех данных, сообщенных в предыдущем, вытекают следующие выводы.

Некоторый лучевой режим необходим для меристемных клеток на всех стадиях их жизненного цикла: подавление излучения влечет за собой приостановку как подготовки клеток к делению, так и самого хода процесса деления.

Если это так, то едва ли будет правильным проводить ту резкую черту разграничения между механизмом «созревания» к делению и самим актом деления и причислять, как мы делали раньше, облучение исключительно к факторам «осуществления». Различие между обоими представляется в свете новых данных значительно более сглаженным. В силе остается, конечно, лишь то положение, что если данная клетка доведена вследствие воздействия всех необходимых факторов, включая и лучевой режим, до полной готовности к делению и дальнейший приток фотонов к ней прекратится, деление останется неосуществленным.

При нашем полном неведении относительно истинного лучевого режима внутри меристемных комплексов и при его ничтожной абсолютной интенсивности всегда остается возможным и даже вероятным, что некоторое количество клеток остается довольно длительное время без притока нужного количества фотонов и поэтому выбывает, хотя бы временно, из числа делящихся клеток.

Некоторой иллюстрацией к этому положению являются наблюдения над ритмом размножения в семенниках амфибий.

Сперматиды хвостатых амфибий развиваются в отдельных, замкнутых, т. е. окруженных капсулой, гнездах путем восьмикратного деления потомства одной единственной первичной семенной клеткой, уже окруженной венчиком из капсулярных клеток (рис. 14). Деление всегда происходит в виде поголовных «эпидемий», и поэтому в идеальном случае число клеток после восьмикратного деления должно было бы равняться $2^{10} = 1024$. В действительности число сперматид в каждом гнезде близко к теоретическому.

но в большинстве случаев не вполне его достигает. То же можно сказать и про число клеток в промежуточных стадиях: оно далеко не всегда является степенью от двух, а чаще иным четным, например, 24, 48, изредка даже нечетным числом и т. д.

Так как, как уже упоминалось, никогда не наблюдается спорадического деления отдельных клеток в гнезде, а всегда лишь эпидемии делений, то приходится заключить, что часто при такой эпидемии выпадает участие одной клетки, причем эта клетка получает возможность к делению лишь при следующей

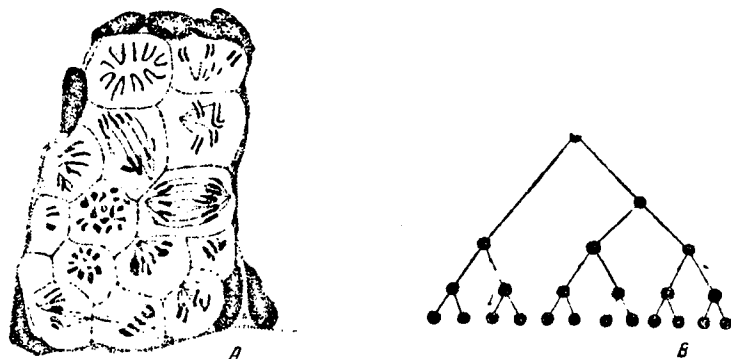


Рис. 14.

А — разрез через гнездо сперматозоидов тритона; В — схема четырех поколений делений при общем числе 12 клеток.

эпидемии (согласно схеме рис. 14), после чего она уже идет в дальнейшем вместе с остальными, т. е. не представляет по своей конституции каких-либо отклонений от нормы.

Здесь, конечно, сама собой напрашивается мысль, что каждая эпидемия делений обусловлена вспышкой излучения, охватывающего весь клеточный комплекс, и что выпадение из очередного деления клетки обусловлено было недостаточным притоком фотонов.

Данные, полученные на эпителии роговицы, доказывают с полной достоверностью, что приток фотонов заметно влияет и на самый ритм деления. Однако ближайший анализ этих же данных и в такой же степени и результатов Залкинда с дрожжевыми культурами обнаруживает, что вовсе нет необходимости в непрерывном притоке фотонов, по крайней мере в случаях с быстрым темпом митозов. Действительно, из этих данных вытекает, что очень кратковременное облучение культур, находящихся под действием тушителей, уже достаточно для полной компенсации их действия на протяжении по крайней мере 15—20 минут.

Из этого можно заключить, что облучение оказывает какое-то последствие соответственной длительности. Однако это не значит, что при этом ритм течения митозов сохраняется в полной степени, т. е. равен нормальному, при наличии собственного лу-

ческого режима. Имеющиеся в нашем распоряжении экспериментальные данные недостаточны для окончательного суждения по этому вопросу.

Придавая излучению решающее значение для митоза, мы должны поставить себе вопрос, как обстоит дело с лучевым режимом различных меристем в темноте, т. е. при обычных физиологических для большинства из них условиях (корешков в почве и животных меристем, за исключением роговицы).

Мы видели, что некоторые из ферментативных процессов сопровождаются излучением и в темноте, другие протекают без излучения. Поэтому сравнительно богатый спектр излучения меристем на свету должен во всяком случае сильно ослабевать в темноте.

Испытания излучения различных биологических источников в полной темноте, проведенные пока еще в недостаточном размере, дали следующие результаты.

Системы с выраженным гликолизом (кровь, рак) излучают в темноте так же хорошо, как и на свету. Но культуры дрожжей, как в пивном сусле, так и на агаре, вообще не обнаруживают излучения при полном затемнении при обычных экспозициях.

Этот на первый взгляд парадоксальный факт (ввиду интенсивного гликолиза в дрожжевых культурах) находит объяснение в следующих данных и соображениях.

Как показано Потоцкой, размножение культур в полной темноте отстает на 18—20% от контрольной, нормально освещенной культуры.

Для оценки явления мы должны принять во внимание, что улавливаемое нами при наших обычных опытах с дрожжами нижнего брожения излучение — по существу всегда вторичное излучение. В жидких культурах при огромном поглощении ультрафиолета суслом уже в слое в 20—30 μ мы по существу наблюдаем лишь вторичное излучение самого сусла. В агаровых культурах поверхностные слои старых, близких к некробиозу клеток также являются лишь вторичными излучениями. Как показали недавние опыты, вторичное излучение глюкозы не обнаруживается, однако, в темноте. Этим и объясняется, повидимому, что излучение, продолжающееся и в темноте в самих клетках или в их непосредственном соседстве, не доходит до свободной поверхности культуры.

С этой точки зрения становится понятен и тот факт, что пленки дрожжевых клеток верхнего брожения, фактически почти совершенно обнаженные, сохраняют свое излучение и в темноте.

Мы приходим, таким образом, к выводу, что меристемы, в которых представлен в достаточной степени гликолиз (а это имеет, несомненно, место во всех случаях), находятся в достаточном интенсивном лучевом режиме и при условиях полной темноты.

Предпринятый нами анализ сможет удовлетворить нас по своим результатам лишь в том случае, если мы сможем для объяснения действия ультрафиолета на клеточное деление сослаться на выясненные нами уже совершенно иным путем механизмы его действия на более простые системы. В настоящее время такая возможность в известной степени реализована.

Прежде всего мы должны обратить внимание на то, что биологические детекторы реагируют на очень широкий диапазон ультрафиолетового излучения без заметной селективности или выпадений. В этом отношении реакция деления занимает, несомненно, особое место среди большинства остальных, более элементарных митогенетических реакций, например, вторичного излучения, большинства фотодиссоциаций, селективного рассеяния.

Ответить с полной определенностью на вопрос, существует ли прямая и простая зависимость между длиной волны и ее митогенетической эффективностью, в общей форме в настоящее время еще невозможно. Из сравнения ряда (самых разнообразных митогенетических источников с некоторой степенью вероятности вытекает однако, что эффективность постепенно возрастает в направлении коротковолновой части спектра: порог эффективности экспозиций убывает по этому направлению независимо от того, с каким именно источником излучения мы имеем дело. Естественнее всего, казалось, можно было бы предположить, что решающим фактором является величина фотона, т. е. запас его энергии.

Однако в действительности это не так. Можно показать, что различие в эффективности различных длин волн, при прочих равных условиях, обуславливается степенью их поглощения телом клетки.

Как было установлено Влэс (Vlès), спектр поглощения живой протоплазмы яиц морских ежей очень близко совпадает со спектром поглощения альбумина, или в более общей форме — белков и пептидов, содержащих ароматические аминокислоты. Ослабевая постепенно по направлению к длинноволновой части спектра, поглощение имеет резкий минимум в области около 2500 \AA и резкий максимум в области 2800 \AA .

Если правильно предположение, что решающим для эффективности фактором является не величина фотона, а степень поглощения данной длины волны, то в этом участке спектра длинноволновая область (2800 \AA) должна быть эффективнее более коротковолновой (2500 \AA), конечно, при прочих равных условиях. Такие условия налицо в сплошном спектре водородной трубки: разница в интенсивности обоих участков здесь очень незначительна и его можно пренебречь.

Испытание порогов времени при облучении дрожжей обоими участками (конечно, при сильном ослаблении интенсивностей) показало, что действительно эффективность длины волны 2800 \AA значительно превосходит эффективность участка около 2500 \AA .

Мы приходим, таким образом, к выводу, что на протяжении всего, очень обширного диапазона митогенетически активной части ультрафиолета, величина фотона не является решающим фактором эффективности. Можно с известным правом сказать, пользуясь физиологической терминологией, что для митогенетического эффекта имеет силу закон «все или ничего».

Действительно, митогенетическая область обрывается в длинноволновую сторону спектра чрезвычайно резко, примерно в области 2700 Å в темноте и 3260 Å при добавочном подсвечивании.

Мы приведем в виде примера по одному результату облучения дрожжей и роговицы лягушки.

Объект	Длина волны	Эффект индукции (в %)	Добавочное освещение
Дрожжи . . .	3260 Å	83	Видимый свет
» . . .	3300 Å	0	» »
» . . .	3260 Å	93	Инфракрасный (15000 Å)
» . . .	3200 Å	10	Темнота
Роговица . . .	3260 Å	2	»
» . . .	3260 Å	71	Инфракрасный (15000 Å)
» . . .	3260 Å	3	» (20000 Å)
» . . .	3300 Å	4	Видимый свет

Сравнивая эти данные с результатами синтеза пептидов из аминокислот (стр. 40), мы убеждаемся в полной идентичности энергетических условий для получения митогенетического эффекта и для синтеза пептидов.

И здесь, и там наименьшим эффективным фотоном при всех условиях является длина волны 3260 Å (с ошибкой в 10—20 Å), соответствующая энергии 87,4 ккал. В обоих случаях, кроме этого, необходима добавочная энергия в виде инфракрасного фотона около 18 ккал. Наконец, граница эффективности в длинноволновую сторону без вспомогательного подсвечивания и при синтезе пептидов и при митогенетическом эффекте лежит между 2700 и 2800 Å.

Это поразительное совпадение энергетических соотношений дает, как нам кажется, право выставить следующее основное положение.

Митогенетическое действие ультрафиолета заключается и исчерпывается вызыванием синтеза пептидов (из аминокислот или из низших пептидов).

Утверждение, что оно исчерпывается этим актом, правильно лишь в предположении, что речь идет об интенсивностях и длительности лучевого режима, совместимых с митогенетическим действием.

Из нашего положения вытекает следствие чрезвычайной важности: если действие ультрафиолетовых фотонов исчерпывается синтезом пептидов, то в случае применения иных, безвредных для клеток приемов такого же синтеза также должен возникать стимуляционный эффект, совпадающий с эффектом облучения. Мало того, вряд ли может подлежать сомнению, что в большинстве клеток действуют синтезирующие ферменты. Этим самым как будто в корне нарушается выставленный нами и, казалось бы, хорошо обоснованный эмпирический тезис о необходимости лучевого режима для деления.

Эти соображения привели нас к обнаружению «синтезина», о котором уже была речь в главе первой.

Опыты Пономаревой показали с полной очевидностью, что действие синтезина на клеточное размножение в роговице полностью совпадает с «митогенетическим эффектом» и в то же время энергетические условия эффективности синтезина идентичны с теми, которые установлены для действия синтезина при пептидном синтезе.

Мы приводим несколько протоколов (по Пономаревой).

Контрольный глаз, число митозов	Глаз купается в разбавленной вытяжке из печени	Эффект (в %)	Световой режим
696	702	1	Темнота
455	854	87	Зеленый свет (5 000 Å)
903	917	1,5	Красный свет

Так как мы знаем (ср. стр. 26), что синтезин обладает способностью, поглощая два малых фотона, слагать их энергию и давать эмиссию ультрафиолетового фотона, то результаты применения синтезина для стимуляции митозов не только не подрывают нашего основного вывода о необходимости облучения для клеточного деления, но, наоборот, служат чрезвычайно убедительным их подтверждением.

Мы видели, что применяемыми нами препаративными методами удается обнаружить присутствие синтезина лишь в печени и в раковой опухоли. При всем интересе этих данных они, конечно, далеко не равнозначны тому, что в остальных органах нет синтезина или истинных, синтезирующих пептиды ферментов. Поэтому нет достаточного основания для утверждения, что при отсутствии излучения прекращается и синтез в меристемных клетках. Однако некоторые наблюдения, несомненно, говорят в пользу этого предположения (речь идет об упомянутых уже нами явлениях, именно о резкой вакуолизации меристемных клеток при достаточно длительном их пребывании в тушителях). Так как явления в фуруроле и раковой тушителе аналогичны, то, по видимому, речь идет не о специфическом воздействии того или иного тела, а о дли-

тельном подавлении излучения. В то же время, на что уже указывалось, наблюдаемая гистологическая картина вполне совпадает с той, которая соответствует несомненному голоданию корешков, лишенных притока веществ из семядолей.

Мы имеем поэтому некоторые основания рассматривать и вакуолизацию при длительном действии тушителей, как белковый голод, вызванный отсутствием синтетической деятельности.

Г. НЕКОТОРЫЕ СООБРАЖЕНИЯ О ПРОЦЕССЕ СОЗРЕВАНИЯ И О ТЕЧЕНИИ МИТОЗОВ

Мы уже знаем, что обычный митогенетический эффект складывается из двух различных процессов: преждевременного деления ряда клеток и ускорения самого ритма деления. Так как оба эти фактора противоположным образом отражаются на общем количестве митозов в препарате, то всегда существует возможность убедиться, что оба слагаемые эффекта возникают и исчезают при одних и тех же условиях. Поэтому есть все основания считать, что механизм действия в обоих случаях один и тот же, т. е. что митогенетический эффект, взятый в своей совокупности, исчерпывается стимуляцией синтетических процессов, а митогенетический собственный режим меристемы, повидимому, вообще необходим для того, чтобы такие синтезы имели место.

Эти соображения в значительной степени смыкают грань между процессом созревания к митозу и его реализацией, о чем мы говорили уже выше.

Тот факт, что необходимой предпосылкой для клеточного деления должно быть предварительное накопление пластических материалов, т. е. по существу белковых тел (или высоких пептидов), представляется до известной степени тривиальным. Вместе с тем с этой общей точки зрения мало понятной является роль фотонов уже в самом процессе деления, так как нет оснований предполагать, что обогащение белковыми телами (понимая этот термин в буквальном смысле) продолжается и во время самого хода митоза.

Однако положение вопроса существенно меняется, если мы примем во внимание, с одной стороны, динамический характер процесса митоза, с другой стороны, его морфологические черты.

Весь процесс митоза (включая и самые ранние подготовительные стадии, которые мы должны, конечно, экстраполировать и на состояние «премитоза», без морфологических коррелятов) является, если можно так выразиться, полной противоположностью устойчивости хотя бы какой-нибудь составной части клетки. Все ее составные части находятся в состоянии непрерывной перестройки вначале прогрессивного, в дальнейшем отчасти регрессивного характера.

Перестройку мы должны понимать как в чисто пространственном, архитектурном смысле, так и в смысле химических изменений. На примере дробления яиц, лишенных обособленных желточных элементов (особенно яиц иглокожих), работами Год-

левского уже давно было установлено, что общее количество хроматина в процессе образования бластулы увеличивается по сравнению с оплодотворенным яйцом во много десятков раз, но, что совершенно ясно, весь материал для синтеза хроматина уже содержится в форме более простых соединений в теле яйца. Речь идет, таким образом, что существу о мобилизации внутренних ресурсов.

Пономаревой показано на примере эпителия роговицы, что при переживании вне организма и без притока питательной среды, многочисленные митозы возникают еще в продолжение почти целого часа. Из этого вытекает, что и обычные меристемные клетки в состоянии без притока пластических материалов извне совершить по крайней мере одно деление, т. е. что и здесь речь идет об использовании собственных ресурсов. Мы будем поэтому говорить преимущественно не о накоплении пластических материалов, а об их мобилизации. Относительно образования хроматина уже давнишние работы Мазинга подтвердили химическим путем выводы Годлевского о том, что хроматин не предсуществует в мелко-дисперсном виде в оплодотворенном яйце, а что речь идет действительно о его синтезе из более элементарных соединений имеющихся в протоплазме. Мы имеем все основания обобщить эти выводы и принять, что мобилизация ресурсов клетки при образовании хроматина носит характер истинного синтеза и, возможно, что роль фотонов при этом особенно велика.

Образовавшиеся комплексы хроматиновых частиц микроскопической видимости обладают, по видимому, значительной степенью устойчивости. Это вытекает не только из микроскопического постоянства и высокой морфологической специфичности хромосом, но и из их поведения при воздействии факторов, приводящих так или иначе к деградационным состояниям клеток и митозов, а именно при воздействии охлаждения, наркозе и действии тушителя.

Детальное изучение хроматической фигуры в этих состояниях позволяет до известной степени расчленить те факторы, которые определяют нормальную морфологию хромосом.

При всех этих воздействиях нарушается архитектура хроматической фигуры, хромосомы утолщаются, укорачиваются и часто слипаются в более или менее бесформенную группу. Но, судя по окраске, их консистенция при этом не разрыхляется, подобно тому как мы это, например, наблюдаем при их постепенном распаде в телофазах.

Мы можем из этого факта сделать правдоподобный, как нам кажется, вывод, что основное строение хромосом определяется довольно прочными связями между отдельными частицами хроматина, которые можно рассматривать как высокие полимеры, но что их специфическая морфология является результатом воздействия окружающих факторов, совокупность которых мы обозначаем как «клеточное поле».

Полной противоположностью с изменением хромосом в состоянии деградации является полный распад всей ахроматической фигуры, уже давно описанный рядом авторов (Гертвиг, Немец) на различных объектах. Этот зернистый распад, возникающий, по-видимому, довольно быстро, также быстро и полностью обратим при возвращении к нормальным условиям.

Мы имеем, таким образом, основания причислить ахроматическую фигуру к неравновесным констелляциям, требующим для своего образования и существования непрерывной затраты энергии. Их «неравновесность» усугубляется еще тем, что элементы ахроматической фигуры подвержены непрерывным изменениям.

В некоторых случаях с особенной ясностью обнаруживается наряду с расплавлением существующей лучистой фигуры возникновение на ее месте новой (Бовери). Все это показывает нам, что синтетические процессы, т. е. образование длинных пептидных цепей и из них мицелл и микроскопических комплексов во время хода митоза, совершаются непрерывно и так же непрерывно идет их частичный распад и, быть может, частично и химическая дезагрегация образовавшихся комплексов.

Влияние непрерывного поглощения новых фотонов по ходу самого процесса становится, таким образом, понятным. Вместе с тем надо иметь в виду, что при опытах Залкинда и Пономаревой с комбинацией тушителя и облучения, последнее настолько кратковременно, что промежутки времени порядка 20 минут проходят без лучевого режима, однако без заметного отставания подопытного объекта от контрольного. Это обстоятельство не составляет особенного затруднения для толкования, потому что, как показывают опыты с пептидным синтезом под влиянием облучения, речь идет о целной реакции с длительным последствием, порядка около одного часа.

Говоря о неравновесности ахроматической фигуры, мы должны иметь в виду, что речь идет, конечно, не о молекулярной неравновесности, а о явлении совершенно иного порядка: вместо освободившихся из неравновесных связей молекул мы имеем здесь дело в качестве элементов с микроскопическими частицами.

Однако различия в поведении обеих составных частей кариокинетической фигуры не исчерпываются отмеченными только что чертами.

Гораздо более существенно то обстоятельство, что, насколько можно судить по микроскопической картине, раз сформировавшиеся хромосомы претерпевают по всему ходу митоза вплоть до телофаз лишь изменения своей конфигурации, но не убыль или прибыль своего молекулярного состава. Наоборот, ахроматическая фигура не только непрерывно изменяет все свое строение, но ее материал после периода непрерывного нарастания так же непрерывно начинает убывать и в конце концов «расплавляется».

Есть, конечно, полное основание считать, что в периоде нарастания идет и соответственный процесс пептидного синтеза.

Менее явным является вопрос о связи между второй, убывающей фазой эволюции ахроматической фигуры (и расплавлением хромасом) и лучевым режимом клетки. Между тем, по данным Пономаревой, влияние облучения по всей видимости в равной мере распространяется и на поздние фазы митоза, т. е. ускоряет их течение.

Вопрос этот можно выяснить, лишь руководствуясь определенными представлениями о механизме нормального увядания митотической фигуры.

Проще всего, конечно, представить себе, что речь идет об истощения могущих быть мобилизованными пластических (или, вернее, энергетических) материалов.

Необходимость этого соображения вытекает из самого факта неравновесности ахроматической фигуры, показывающей, что для ее поддержания необходима затрата энергии, т. е. наличие экзотермических реакций в клетке.

Что касается дезагрегации хромосом в телофазе, то здесь положение менее ясно: изменения хромосом при деградации (охлаждении) очень резки, но микроскопически не сравнимы с разрыхлением, характерным для телофаз и заставляющим подумать об их распаде вследствие их неравновесности.

Влияние чрезмерного облучения может здесь до известной степени вскрыть положение вещей.

Так как на основании модельных опытов можно предположить, что энергетические вещества расходуются при этом в более скором темпе, то, с одной стороны, и вызываемые ими процессы восходящего колена кривой митоза протекают скорее, и процессы распада, связанные с поздними стадиями, наступают раньше и протекают более бурно.

Общий вывод из нашей довольно сложной аргументации довольно прост и как будто банален.

Ритм митоза в очень значительной мере определяется степенью образования пластических материалов. Этим самым мы устанавливаем полную эквивалентность температурного и лучевого фактора в их воздействии на течение митоза. При этом мы имеем основания устранить этот кажущийся дуализм, приняв, что температурный фактор имеет непосредственным последствием изменение лучевого режима клетки и что лишь этот последний воздействует непосредственно на ритм деления. Этим и объясняется, быть может, интересные данные Бужчианте, с полной убедительностью показавшего, что характер зависимости ритма деления от температуры очень резко уклоняется от коэффициента вант Гоффа для химических реакций.

Диапазон длительностей митозов фибробластов действительно необычайно велик — от 15 минут при оптимальной температуре (40°) до 4 часов при 20°. Можно было бы, правда, с некоторым

преувеличением, сказать, что ритм митоза не принадлежит к точно определенным видовым признакам.

Мы легко миримся с этим общеизвестным и поэтому несколько банальным фактом, насколько не задумываясь над глубокой содержащейся в нем проблемой, которой мы коснемся в самых кратких чертах.

Морфология митотической фигуры типична до самых мелких, специфических видовых деталей, от первых шагов профаз до последних следов телофаз. Так как вместе с тем речь идет в действительности о морфокинезе, т. е. о непрерывной смене всех пространственных соотношений, конфигураций и т. д. всех морфологических элементов, то строгое сохранение морфологии, без искажений, при любой скорости процесса, с диапазоном, превышающим в некоторых случаях отношение 1:10, возможно лишь при строгой координации ритмов всех входящих в состав кариокинетической фигуры морфологически различных элементов.

Возникает вопрос: как представить себе этот механизм координации?

Предположение, что все сложные, лежащие в основе морфокинеза процессы имеют одинаковый температурный коэффициент, слишком мало правдоподобно, раз весь процесс как целое не подчиняется простой зависимости Вант Гоффа. Вопрос несомненно намного сложнее.

Если игнорировать наши новые данные и постараться разобраться в нем независимо от них, то мы станем перед альтернативой координации всех элементарных морфокинетических процессов, без преобладания какого-нибудь из них, или их субординации одному единому клеточному фактору, остающемуся при этом как бы за кулисами.

Действительно, мотивированный выбор здесь едва ли возможен.

Положение дела, однако, существенно изменяется, если стать на нашу теперешнюю точку зрения, т. е. поставить ритм процесса, взятого как целое, в непосредственную зависимость от интенсивности процессов синтеза пептидов. Зависимость ритмов отдельных частичных процессов от притока пептидов не может быть одинаковой для всех.

Не может быть больше сомнения в том, что весь ход митоза субординирован какому-то одному фактору или процессу, находящемуся в непосредственной зависимости от количества притекающих пептидов, и вопрос сводится теперь к тому, о каком именно факторе может идти речь.

Вопрос этот приходится оставить в настоящее время открытым. Мы должны удовольствоваться тем, что альтернатива разрешается, повидимому, в пользу принципа субординации, что находится в полной гармонии с принципом поля.

МИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НЕРВНОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ

А. ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ ВОЗБУЖДЕНИЯ В КЛАССИЧЕСКОЙ И МИТОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ФИЗИОЛОГИИ

Если дать себе ясный отчет, в чем заключается анализ проблемы нервного возбуждения, то мы увидим, что любой подход к этому явлению выливается в одни и те же рамки: экспериментатором дается раздражение, возникает какое-то состояние возбуждения X и связанные с этим возбуждением определенные проявления, непосредственно доступные для восприятия и анализа. Таким образом, правильнее говорить не об анализе возбуждения, а об анализе проявлений возбуждения, на основании которых строится представление о возбуждении.

Проявлениями нервного возбуждения или нервной деятельности мы считаем две совершенно не связанные друг с другом категории явлений.

1. Явления, в которых нервная деятельность выливается в свою окончательную форму — возникновение ощущений, — т. е. категория психических явлений и более элементарных реакций эффекторных органов, мышц, желез и т. д.

2. Возникновение симптомов возбуждения, регистрируемых непосредственно на самой нервной системе, т. е. характеризующих возбуждение независимо от его окончательной формы проявления.

Мы должны дать себе совершенно ясный отчет в следующем: мы не знаем, с какой именно фазой многочленного процесса возбуждения связано возникновение симптомов. Другими словами, благодаря симптомам мы получаем сведения только относительно каких-то отдельных, промежуточных звеньев, значительная же часть их остается для нас абсолютно неизвестной. Действительно, представим себе для ясности следующую картину. Раздражение вызывает в нерве какое-то состояние возбуждения X , которое, распространяясь по нерву, доходит до мышцы. Симптом может быть связан именно с этой фазой. Одинаково возможно, однако, и следующее: состояние X нерва, вызываемое раздражением, не связано с возникновением симптома, т. е. мышца получает сигнал о раздражении раньше, чем возникает симптом. После получения мышцей сигнала, что вовсе не равнозначно сокращению (длительность латентного периода), в нерве возникает состояние, которое мы можем назвать второй фазой возбуждения — X_1 , оно и будет связано с возникновением симптома.

Классическая физиология имеет в своем распоряжении один симптом — электрические явления, митогенетическая физиология прибавляет второй — излучение.

Таким образом, раздражение является стартом для цепи последовательных событий, совокупность которых мы называем возбуждением; симптомы дают нам косвенные сведения относительно

средних звеньев этой цепи явлений, анализ ощущений и реакции эффекторных органов — сведения относительно последних членов.

Нам кажется, что такая формулировка представления о возбуждении выдвигает на первое место вопрос о субстрате реактивного процесса, т. е. о субстрате возбуждения. Субстратом возбуждения мы называем совокупность материальных частиц, реакции которых однозначно связаны с проявлениями нервной деятельности.

Неопределенный термин «материальные частицы» введен нами намеренно: этим мы хотим показать независимость наших представлений от гистологических. Мы не остановимся на гистологическом понятии нейропиля, а, основываясь на митогенетическом анализе, перейдем, как это будет видно из дальнейшего материала, к величинам совсем другого — молекулярного порядка.

Нам должно быть с самого начала совершенно ясно следующее: понятие субстрата возбуждения и понятие возбуждения являются для нас неразрывно связанными, т. е. анализ субстрата означает для нас анализ возбуждения и характеристика субстрата независимо от акта возбуждения представляется нам невозможной. Другими словами, в чисто формальное определение возбуждения, которое мы можем пока дать, — возбуждение есть всякое изменение субстрата, — мы путем анализа субстрата попытаемся вложить некоторое содержание.

Как уже было сказано, путем для анализа субстрата возбуждения являются обе категории проявления нервной деятельности, но к осуществлению анализа мы подходим с вполне определенной точки зрения.

Обе категории проявлений нервной деятельности являются с нашей точки зрения неравноценными. Мы хотим этим сказать следующее: решающее значение для выработки окончательных представлений относительно характера субстрата возбуждения и его изменений принадлежит тем реакциям, в которых нервная деятельность проявляется в своей окончательной форме, т. е. психическим эквивалентам возбуждения и реакциям эффекторных органов.

Симптомы возбуждения, хотя и являющиеся непосредственным рабочим средством для анализа субстрата, дают нам сведения о промежуточных стадиях многочленного процесса возбуждения и не могут поэтому иметь самостоятельного значения. Представления о субстрате возбуждения, полученные на основании симптомов, должны полностью гармонизироваться с представлениями, базирующимися на первой категории проявлений. Только в этом случае мы можем признать адекватность данного симптома, т. е. его пригодность для анализа субстрата.

Анализ окончательных проявлений нервного возбуждения, особенно возникновение ощущений, приводит к следующему представлению: каждый элемент нервной системы, будь

то нервное волокно, клетка или участок нейрона в коре, представляет аппарат, способный к безгранично разнообразным состояниям возбуждения.

Эти представления, сформулированные и обоснованные гораздо раньше (Gurwitsch, *Histologische Grundlagen der Biologie*, Лена, 1931), при анализе возникновения зрительных ощущений, стали постепенно проникать в классическую нейрофизиологию, где у целого ряда авторов [Лешлей (Laschley), Геррик (Herrick), Бете (Bethe), Поллак (Pollak), Анохин] мы находим аналогичные высказывания, основанные отчасти тоже на анализе зрительных ощущений.

Ввиду принципиальной важности этого представления мы постараемся привести в главных чертах его обоснования.

Анализируя твердо установленные гистологические данные относительно зрительного тракта и сопоставляя их с возникновением ощущений, А. Гурвич говорит следующее¹: «Можно показать, что зрительный нерв представляет эквипотенциальную систему, т. е. что каждый его элемент может производить «все возможное», другими словами, состояния каждого элемента должны быть так же неограниченно многообразны, как и состояния всего нерва. Рассмотрим, что происходит в зрительном эпителии. Если бы гистологическая архитектура на всем протяжении сетчатки была та же, что и в fovea, где каждой колбочке соответствует биполярная и ганглионарная клетка и соответственно волокно зрительного нерва, то мы не могли бы рассматривать весь оптический путь как эквипотенциальную систему.

Но уже на расстоянии 1 мм от центра fovea на одну ганглионарную клетку приходится 1 000 палочек, которые схематически можно представить в виде круга с диаметром в 15 единиц. Острота зрения в этом отстоящем на 5° от центра fovea участке почти равна максимальной, т. е. еще довольно велика. Из поля зрения, удаленного от глаза на 1 м, на данный ареал палочек приходится участок диаметром 12 мм.

Совершенно очевидно, что оптическое содержание этого участка может быть безгранично многообразно, т. е. что и содержание возбуждения зрительного волокна, соответствующего полю зрения, тоже безгранично многообразно».

«...Представим себе, что мы имеем два соседних ареала палочек, из которых каждый охарактеризован принадлежностью к одной биполярной клетке. При однородном возбуждении всего такого ареала возникает элементарное (пороговое) ощущение. Если же только часть ареала находится в каком-то однородном состоянии, тогда возбуждение проходит бесследно, т. е. не дает никакого психического эквивалента. Однако совершенно очевидно, что при однородном возбуждении палочек, занимающих ту же площадь, но относящихся к двум соседним ареалам, элементарное ощущение также возникает, хотя разнородное состояние возбуждения ка-

¹ См. список литературы в конце главы.

ждой из биполяр, взятой в отдельности, остается безрезультатным. Из этого обязательного допущения следует, что понятие элементарного ощущения никоим образом нельзя связывать с представлением об однородном возбуждении обособленной анатомической единицы — комплекса палочек и биполяра.

Представим себе мысленно следующий эксперимент.

По линии, соединяющей точки сетчатки, обладающие одинаковой чувствительностью (порогом возбуждения и остротой зрения) движется пороговое раздражение. Очевидно, что результатом будет непрерывное пороговое ощущение. Проследив мысленно проекцию раздражаемых точек через всю глубину сетчатки, мы увидим, что с чисто анатомической точки зрения комбинации более глубоких элементов сетчатки, затрагиваемых в каждый данный момент проекцией, будут безгранично многообразны, и обратно, каждый из более глубоко лежащих элементов будет приходить в бесконечно разнообразные состояния возбуждения. Другими словами, «нейрон как целое полтиреактивен».

К аналогичным представлениям приходит Поллак. Анализируя проекцию сетчатки на кору у обезьян, он говорит, что очень маленький размер проекции макулы делает необходимым допущение о том «...что один и тот же кортикальный аппарат, в данном случае макулярная кора, способен к быстрым ответам на практически неограниченное количество качественно различных стимулов. Хотя, согласно нашему предположению, пространственное распределение зрительных нейронов существует и, больше того, является, очевидно, необходимым условием для возникновения ощущения, соответствующего зрительному образу, зрительная доля коры вследствие своей организации обладает способностью реагировать самыми различными путями. Поэтому представление о зависимости возникновения данного зрительного образа от возбуждения определенной группы рядом лежащих ганглионарных клеток, как это предполагается сторонниками теории локализации, является, по видимому, мало подходящим. Гораздо вероятнее, что в большинстве зрительных рецептивных (и перцептивных) актов принимает участие большое количество кортикальных клеток. Некоторые или большинство клеток участвуют в различное время в разных рецептивных процессах, различные комбинации тех же клеток обуславливают возникновение «образов», резко отличающихся от предыдущих».

Приблизительно те же представления, сформулированные только несколько иначе, мы находим у Лешлея. Анализируя возникновение инстинктов, он приходит к заключению¹, «что инстинктивное поведение, по видимому, отличается от рефлекторного тем, что оно вызывается структурой возбуждения, независимо от определенных центростремительных клеток, проводящих стимул». В качестве примера он тоже берет восприятие зрительных структур у человека. «Если глаз неподвижен и вдоль поля ясного зрения движется какой-либо предмет, та же самая реакция (именно название

¹ Цитирую по русскому переводу.

предмета) получается при возбуждении любой точки сетчатки. Сказать, что для каждого из возможных положений образуется особый шавык, было бы нелепо, так как данный предмет, быть может, никогда раньше не встречался испытуемому. Остается допустить, что ответная реакция определяется размерами и конфигурацией предмета и что в пределах данной остроты зрения она не зависит от возбуждения определенных клеток. Это означает, что не только на сетчатке, но и в центральной проекции на коре имеется постоянный приток стимулирующей, при этом одни и те же клетки редко или вовсе не возбуждаются дважды одним и тем же стимулом и все же получается постоянная реакция. Деятельность зрительной коры аналогична электрической рекламе, при которой ряд букв быстро пробегает через неподвижную группу лампочек. Морфологическая структура фиксирована, но функциональная структура свободно действует в ней, не ограничиваясь специфическими элементами.

Выражение «функциональный полиморфизм корковых клеток» мы находим и у Анохина (4).

Мы приводили до сих пор материал, относящийся к наиболее сложным, «высшим» проявлениям нервной деятельности — ощущениям, т. е. психическим эквивалентам возбуждения, но о многообразии содержания возбуждения мы можем судить и по несколько более элементарным проявлениям — реакциям эффекторных органов. Это представление, не облеченное, правда, в ясную формулировку, несомненно было у Иксюль (Uexküll), анализирующего поведение объектов, обладающих элементарной нервной системой, например, морских ежей.

Он пишет (цит. по Бете, 5), «что поиски центров ходьбы или центров поворотов напрасны. Каждая игла «знает», что она должна делать при данных обстоятельствах, и поэтому как на целом животном, так и на маленьких кусочках, несущих отдельные иглы, наблюдается такая гармоническая слаботанность отдельных частей, какую, может быть, едва ли можно найти у животных с централизованной нервной системой».

«Мы можем характеризовать таких животных, как «республику рефлексов», так как у них не существует центров в обычном смысле слова». Многообразие возбуждения каждого элементарного аппарата при этом, конечно, несомненно.

Представление о разнообразии возбуждений каждого отдельного элемента нервной системы предьявляет к поставленной нами задаче — анализу субстрата возбуждения — вполне определенные требования, т. е. вкладывает в понятие субстрата определенное содержание: представление о субстрате должно быть в первую очередь связано с возможностью его неограниченных перестроек.

Средством для анализа субстрата являются, как мы уже говорили, симптомы возбуждения, но, очевидно, представления, которые строятся о субстрате возбуждения на основании симптомов,

должны полностью гармонировать с представлениями, вытекающими из анализа окончательных форм проявления нервной деятельности. Следовательно, и интересующие нас симптомы возбуждения должны иметь разнообразный характер проявлений. Мы должны предъявить и второе требование к симптому — он должен принадлежать к тем явлениям, механизм возникновения которых представляется (более или менее ясным и не очень сложным). Действительно, только в таком случае мы сможем иметь с самого начала представление о порядке величин материальных частиц, совокупность которых мы можем назвать субстратом возникновения симптома, а следовательно, и о характере, т. е. о возможном многообразии процессов, происходящих в нем.

С этой точки зрения мы хотим дать очень короткую, отнюдь не претендующую на охват всех областей, характеристику современного состояния классической нейрофизиологии.

Наиболее характерно, по нашему мнению, следующее: анализ возбуждения центральной нервной системы (мы имеем в виду головной мозг) и периферической нервной системы рассматривается в виде двух совершенно различных задач.

Этим мы хотим сказать следующее. Физиология периферической нервной системы поставила своей исключительной задачей изучение электрических явлений в нерве в различных, главным образом даже искусственных, изолированных состояниях, и пока этим ограничилась. Таким образом, строго говоря, физиологию периферической нервной системы мы можем пока назвать «физиологией симптома», т. е. физиологией только одного проявления нервной деятельности.

Построение физиологии головного мозга имеет совсем другой характер, близкий, как нам кажется, по существу к построению митогенетической физиологии. В этом случае электрические явления в коре рассматриваются, повидимому, с самого начала только как очень удобный для изучения симптом возбуждения, которому не придается самостоятельного значения и изучением которого физиология головного мозга себя во всяком случае не ограничивает.

Действительно, наряду с электрофизиологическим направлением все больше и больше развивается направление, ставящее своей главной задачей анализ «окончательных проявлений» деятельности коры, т. е. анализ психического эквивалента возбуждения. Производится он главным образом путем наблюдения над поведением животных после определенных оперативных вмешательств, т. е. удалений или разрушений определенных участков коры. Такой ход исследования приводит физиологию головного мозга к представлению о необходимости понятия субстрата возбуждения, которое, правда, рассматривается пока совсем в другой плоскости, чем это делает митогенетическая физиология.

Данная нами в самых общих чертах характеристика современного состояния классической нейрофизиологии имеет в такой форме, конечно, совершенно произвольный характер, и на нас лежит

обязанность ее обоснования. Нам кажется, что мы это можем сделать.

Начнем с периферической нервной системы.

Главное направление физиологии было заключено, как мы уже говорили выше, во вполне определенные рамки, захватывающие только изучение электрического симптома нервного возбуждения. Однако внутри этого общего пути существуют отдельные направления, которые мы можем распределить следующим образом.

1. Направление, рассматривающее импульс возбуждения как электрический импульс, т. е. стоящее на точке зрения электрической природы нервного возбуждения. Очень определенную, но с нашей точки зрения совершенно произвольную формулировку этого представления мы находим у Лапики (Lapicque), который пишет [цитирую по Бейтнеру (Beutner)]: «Только одно искусственное раздражение, повторяющееся с короткими интервалами, может вызвать результаты, аналогичные физиологическому раздражению, — это раздражение электрическим током. Это указывает на то, что природа физиологического раздражения имеет электрический характер». Может быть, еще более ярко это выражено им в специальной статье, где он употребляет следующее выражение: «электрическое колебание, составляющее нервный импульс».

На такой же точке зрения стоит Лилли (Lillie), который, изучая распространение волны активации по проводке, покрытой пленкой из окиси железа и погруженной в азотистую кислоту, рассматриваемую им как модель распространения по нерву волны возбуждения, говорит: «Активация электрическим током является типичным полярным феноменом, так же как и возбуждение в нерве».

Типичным для этого направления исследования является то, что нервы приводились в состояние возбуждения исключительно искусственным электрическим путем и сами находились всегда в чисто искусственном изолированном состоянии.

2. Направление, рассматривающее электрические явления только как симптом возбуждения нерва. Однако, несмотря на этот необычайно четко формулирующийся у некоторых авторов взгляд, задача их, как мы уже говорили, ограничивается только изучением этого симптома, и совершенно не ставится вопрос об одновременном анализе окончательных форм проявления нервной деятельности, а следовательно, и о субстрате возбуждения.

Пожалуй, наиболее ярко этот взгляд выражен в новой монографии Эрлангера и Гассера (Erlanger e. Gasser) «Electrical signs of nervous activity». Авторы, как это уже показывает самое название и как это видно из очень определенно сформулированных взглядов, считают, что электрические процессы являются исключительно симптомами нервной деятельности, тем не менее они посвящают всю монографию только изучению этого симптома.

Они говорят следующее: «По терминологии, употребляемой в нервной физиологии, одиночные сигналы называются «spikes» или «spike-processes», если мы хотим отделить электрический сигнал явления от самого явления. «Spikes» сравнимы с тиканем

часов. Оба являются только сигналами деятельности какого-то механизма и оба обуславливаются определенной энергией, одни — энергией пружины или поднятого груза, другие — энергией, освобождающейся при окислительном метаболизме...» «Действительно, возбуждение должно быть рассматриваемо как цепь событий, и «spike-processes» представляют только что их...» «Экспериментатор принужден пользоваться моделями нерва, и нервные явления получают поэтому интерпретацию, обусловленную этими моделями, — единственными «нервами», которые нам понятны. Но если модель дает всю совокупность фактов, тогда она будет так же сложна, как и настоящий нерв. А в действительности модели такого сорта являются самым грубым упрощением».

Исходя из того, что «spike-potentials» являются только одним из звеньев общей цепи событий, называемой возбуждением, авторы вместе с тем выделяют его из всей совокупности электрических явлений на первое место на основании следующего, как нам кажется, произвольного допущения.

Они говорят: «специфическим качеством «spike-process'a» является постоянство его характера. Он подчиняется принципу «все или ничего», завися исключительно от состояния нерва, а не от характера раздражителя, продуцирующего его...» «Следовательно, «spikes» выражают специфическую черту нервной организации, проявляющуюся в специальной функции нерва — проведения импульсов».

Аналогичные представления мы находим у Эдриэна (Adrian, 8). Считая электрические явления в нерве наиболее адекватными симптомами возбуждения, он переносит принцип «все или ничего», т. е. монотонную электрическую реакцию нерва, и на самое понятие возбуждения. Особенно ясно это видно из следующих слов: «Мы ограничиваемся поэтому установленным выше положением, согласно которому зрительный аппарат передает информацию в мозг при помощи тех же сигналов, что и другие изученные нами рецепторы. Качество ощущения, вызываемое светом, падающим на сетчатку, не зависит от качества сигналов, передаваемых его волокнами».

Резюмируя свои представления о применении принципа «все или ничего» к понятию нервного возбуждения, Эдриэн дает с нашей точки зрения очень интересное определение импульсов возбуждения, интересное потому, что в нем автор, может быть, до некоторой степени бессознательно, вводит, не говоря этого прямо, понятие субстрата возбуждения, но не останавливается сам на этом. Он говорит: «Импульс представляет собой мгновенное нарушение, проходящее по волокну и сопровождающееся изменением электрического потенциала».

Нарушение чего и о каком характере нарушения идет речь, остается для нас неясным.

Наряду с этими классическими направлениями (мы имеем в пиферической нервной физиологии направление совсем другого характера, выводящее представление о многообразии возбуждений от-

дельного элементарного нервного аппарата и о «пластичности» нервной системы и рассматривающего токи действия как симптомы, отнюдь не исчерпывающие сущности того процесса, который мы называем нервным возбуждением, и не имеющие поэтому первостепенного значения. Однако это оригинальное и несомненно гораздо более широкое направление, развиваясь самостоятельно, остается как бы несколько в тени, так как оно несколько не влияет на позиции классической электрофизиологии.

Наиболее яркие и определенные формулировки этого представления мы находим, пожалуй, у Бете. «В действительности, — пишет он, — между монотонными результатами, получаемыми электрофизиологами на отпрепарированных и изолированных нервах, и необычайным разнообразием явлений, наблюдаемых исследователями на целом или по возможности мало поврежденном животном, существует пропасть. Каждый мостик, который пытаются построить между той и другой областью явлений, основывается обычно на многочисленных гипотезах и недоказуемых допущениях». «Я не хочу этим сказать, — прибавляет он, — что должна быть отвергнута попытка теоретического толкования центральных процессов при помощи исследования электрических явлений. Нельзя только утверждать, что цель может быть достигнута только таким путем...» «Мы должны помнить, что токи действия являются только симптомами действительного процесса, происходящего в нерве».

«...Не задачей нейробиологов является объединение найденных ими многообразных явлений с результатами электрофизиологов, а последние должны, пользуясь своими взглядами и догмами, объяснить наблюдения нейробиологов. Бремя доказательства истины должно лежать на электрофизиологах, так же как, например, химики предоставили атомным физикам выработать такую теорию строения атома, которая гармонировала бы с бесконечным количеством химических фактов...» «То, что мы действительно знаем о нервах, сводится к следующему — они проводят возбуждение и в них возникают связанные по времени с проведением электрические явления. Эта временная связанность установлена, однако, только для острых процессов (для прямого и непрямого раздражений, приводящих к рефлекторным сокращениям, или для произвольных тетанусов), но не для тонических изменений, которые могут быть вызваны также и у позвоночных. Что происходит в нервной системе (как периферической, так и центральной) при этих и при многих других медленно изменяющихся состояниях, что происходит при меняющихся состояниях торможения, при возникновении и падении тонуса и т. д., остается для нас совершенно неясным. Но если здесь и будут обнаружены изменения потенциала колеблющегося или неколеблющегося характера, что было бы вполне естественно, то это несколько не мешало бы нам предположить, что наряду с этим происходят процессы и совсем другого характера, которые электрически никак не проявляются. Нашей фантазии остается большая область, и многие старые и новые явления

говорят за то, что в нервной системе наряду с процессами, связанными с электрическими явлениями, происходят еще и многие другие.

Такую же позицию по отношению к классической физиологии занимает Винтерштейн (Winterstein, 8): «С тех пор как уже больше чем пятьдесят лет тому назад Дюбуа Реймондом (Dubois-Reymond) была введена и разработана легкая и удобная методика электрического раздражения,— говорит он,— физиологи настолько к ней привыкли, что начали идентифицировать явления, вызываемые электрическим раздражением, с физиологическими процессами и совсем забыли, что в первом случае они имеют дело с чисто искусственным вмешательством в нормальный жизненный ход событий...» «Методика электрического исследования,— говорит он дальше,— показала себя при бесчисленных исследованиях как прекрасный метод анализа различных явлений, таким она наверно и останется. Но мы должны освободиться от существующего заблуждения и перестать идентифицировать явления, возникающие при электрическом раздражении, с физиологическими процессами и физиологию процессов возбуждения, построенную на таком произвольном допущении, мы должны заново исследовать».

К этому же направлению, несомненно, принадлежит и Вейсс (Weiss), представления которого будут рассмотрены в дальнейшем.

Нам кажется, как мы уже говорили выше, что принципиально отличное направление по сравнению с классической электрофизиологией периферических нервов мы имеем в изучении центральной нервной системы.

Анализ возбуждения головного мозга идет двумя различными путями: во-первых, путем изучения электрических явлений в коре, которые рассматриваются исключительно как симптом деятельности коры, и, во-вторых, путем изучения «окончательных проявлений» деятельности коры, т. е. изучения ощущений и связанной с ними совокупности психических явлений. Это последнее направление приводит, как мы уже говорили выше, к представлению о многообразии возбуждения отдельного элементарного аппарата, например, участка нейропилы или нервной клетки, и вместе с тем к представлению «о неспециализированной динамической функции всей ткани (кору или участка коры) в целом» (Лешлей, 3).

Представителями этого направления являются Лешлей, Геррик и Поляк.

В противоположность полной однородности токов действия периферических нервов, отличающихся только ритмом возникновения, токи действия коры необычайно разнообразны, причем между конфигурацией кривых изменения потенциала и качеством возбуждения существует тесная связь. В этом отношении метод электроэнцефалограмм, широко применяемый Бергером (Berger) Корнмюллером (Kornmüller) и Саркисовым, представляет очень большую ценность.

Необычайно важно, конечно, и то, что авторам удается обнаружить на коре, в противоположность нервам, при совершенно

физиологических условиях и токи покоя «*Feldeigenströme*», как они их называют. Условное, как они сами говорят, состояние покоя достигается возможным устранением внешних адекватных раздражителей.

Таким образом, в физиологии головного мозга данные классического симптома возбуждения находятся в полной гармонии с представлениями относительно многообразия возбуждения элемента коры. В связи с этим в этой области все большее значение начинают приобретать представления о субстрате возбуждения, причем к этому вопросу подходят представители обоих направлений.

«Перед нами стоит вопрос, — пишет Бергер, — где возникают волны ЭЭГ и что они означают». Такие же поиски субстрата для «тотального» и вместе с тем многообразного функционирования коры мы находим и у Геррика, и у Лешлея, и у Поллака. Но и там, и здесь представления о субстрате возбуждения связываются почти исключительно с гистологическими структурами. Особенно ярко это выражено у Корнмюллера (11), который на основании своих результатов, показывающих, правда, замечательную зависимость конфигурации кривых потенциала от архитектоники данного поля, пишет: «Наши исследования отличаются, может быть, от исследований других авторов тем, что мы исходим из морфологии и связываем наши физиологические исследования с архитектурой коры».

Несколько другой взгляд мы находим, правда, у Бергера (10), который в виде рабочей гипотезы выставляет следующее представление: «Волны ЭЭГ связаны каким-то образом с материальными процессами, происходящими в коре, которые мы можем назвать психофизическими, так как они при известных обстоятельствах несомненно связаны с актами сознательных восприятий. Я рассматриваю, таким образом, на основании полученных данных волны ЭЭГ как электрические явления, связанные с распространяющейся в известном направлении активной волной, которая объединяет оба полушария в одно, однозначно реагирующее целое».

Таким образом, во всяком случае в этом представлении, Бергер не связывает себя гистологическими рамками.

Вместе с тем взгляды представителей другого, не электрофизиологического направления (Лешлея, Геррика, Поллака) связаны, как мы уже говорили, с чисто гистологическими представлениями. Понимая необходимость представления о «континууме», введенного А. Г. Гурвичем, они отождествляют его с нейропилем, так как, как говорит Поллак, «существование специальных диффузно распределенных нейронов прекрасно удовлетворяет всем постулатам гештальт-психологов».

Если мы вспомним принцип построения главного направления классической физиологии периферической нервной системы, то нам кажется, что, несмотря на некоторое сходство представлений, между той и другой областью существует глубокое принципиальное различие. Действительно, во всяком случае в настоящий момент, они ставят себе различные задачи. Физиология нервов ограничи-

вается изучением электрического симптома возбуждения, т. е. с нашей точки зрения изучает только проявления каких-то промежуточных членов сложной цепи событий, называемой возбуждением, и строит на основании этого представление о характере возбуждения. Физиология мозга, наряду с изучением промежуточных членов цепи электрических явлений в коре, анализирует «окончательные нормы проявления» деятельности коры и подходит к представлению о субстрате возбуждения.

В связи с изложенными нами вначале представлениями мы должны коротко коснуться еще следующего. Несомненно, что субстрат возбуждения принадлежит к той категории понятий, которые нуждаются в наибольшей конкретизации. В связи с этим встает следующий вопрос: являются ли токи действия тем симптомом, который годится для анализа субстрата? Т. е. представляется ли механизм или, вернее, субстрат возникновения токов более или менее ясным?

Мы постараемся ответить на этот вопрос, в котором мы отнюдь не считаем себя компетентными, только с одной определенной точки зрения.

Возникновение тока, т. е. какое-то изменение потенциала, является во всяком случае таким элементарным актом, какой мы имеем в случае возникновения кванта излучения.

Действительно, если возьмем, например, работы Лапика (12), специально рассматривающего электрическую теорию возбуждения, то мы найдем у него следующее: «Мы можем рассматривать поляризацию — первую фазу воздействия электрического тока на ткань, как следствие смещения ионов... Но перемещение ионов вызывает в каждой точке обязательное изменение коллоидного состояния ткани. Природа этого коллоидного изменения зависит от свойств коллоида, особенно от его изоэлектрического пункта, от качества ионов, сконцентрированных или разреженных, т. е. от факторов, трудно определяемых, но несомненно существующих».

«Таким образом, — говорит он, — коллоидное изменение, вызванное перемещением ионов, является, должно быть, главнейшим механизмом возбуждения»¹.

Другими словами, мы имеем дело во всяком случае с очень сложным механизмом возникновения электрических явлений в черве, т. е., например, вопрос о порядке величин материальных частиц, специфичных для субстрата тока, а следовательно, с классической точки зрения, и для субстрата возбуждения, остается неясным.

Таким образом, с нашей точки зрения токи действия не во всех отношениях выдерживают те требования, которые мы предъявляем к «адекватным симптомам» возбуждения.

¹ М. Кремер (Cremer) в своем обзоре «Причины возникновения электрических явлений в живых тканях» в «Handb. d. nat. u. pathol. Physiol.» подчеркивает, что он не выходит из рамок общих соображений относительно причины возникновения разности потенциалов в многофазных жидких системах.

Удовлетворяет ли митогенетический симптом возбуждения этим требованиям?

Нам кажется, что да, и право на это утверждение дает нам более или менее определенное представление о механизме и о «субстрате» возникновения излучения. Действительно, выход каждого фотона является результатом какого-то молекулярного акта, который в самой общей форме может быть выражен как переход молекулы с более высокого энергетического уровня на более низкий. Следовательно, если мы, отвлекаясь для простоты от всех других явлений, рассмотрим нервную систему только как источник излучения, то решающее значение для нас должны иметь не гистологические единицы, а единицы совсем другого, молекулярного, порядка. При этом, согласно нашему основному представлению, вытекающему из анализа субстрата излучения различных организованных систем, среди которых нервная система является только частным случаем, под единицами молекулярного порядка нужно понимать не отдельные молекулы, а молекулярные констелляции, т. е. какого-то рода молекулярные агрегаты.

Таким образом, субстрат излучения нервной системы мы представляем как совокупность молекулярных констелляций, но, как мы уже говорили раньше, характеристика субстрата излучения будет представлять для нас интерес только в том случае, если нам удастся показать его адекватность основным представлениям относительно многообразия возбуждения каждого элементарного аппарата нервной системы. Только тогда мы можем считать излучение полноценным симптомом возбуждения и субстрат возбуждения отождествлять с субстратом излучения.

Нам кажется, что представление о субстрате излучения вполне удовлетворяет этим требованиям. Действительно, только в области молекулярных констелляций мы можем найти то неограниченное многообразие перестроек и изменений, которое соответствует многообразию состояний возбуждения. Обоснованием этим, данным пока в самых общих чертах, соображением будет служить все наше дальнейшее изложение.

В. МИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ СИМПТОМ ВОЗБУЖДЕНИЯ — ИЗЛУЧЕНИЕ

1. Возникновение митогенетического симптома

Митогенетическое излучение присуще любому состоянию нервной системы и состояниям возбуждений, вызываемых различными раздражениями — искусственными и физиологическими, и так называемому состоянию покоя. Это последнее понятие в сущности чисто условное, и его ни в коем случае нельзя противопоставить возбуждениям. Мы считаем поэтому более точным следующее выражение: нервы находятся в состоянии непрерывного тонического возбуждения, на которое накладываются различные раздражения. Для центральной нервной системы, именно коры головного

мозга, состояние покоя означает только возможно полное выключение внешних раздражителей.

Однако при применении раздражений нервная система излучает сильнее, чем при «покое».

Прежде чем перейти к изложению основного фактического материала, мы должны коротко остановиться на некоторых общих данных, характерных для излучения всей нервной системы.

Вполне естественный, вернее, обязательный, вопрос о степени прозрачности нервных и мозговых оболочек для митогенетического излучения подробно рассмотрен в одной из предыдущих глав, в связи с более общими митогенетическими данными. Поэтому мы здесь не будем его касаться.

1. Как и следовало ожидать, нервная система полностью сохраняет способность к излучению и в полной темноте: об интенсивности излучения, сравнимой с излучением, обнаруживающимся на свету, мы судим по пороговым экспозициям.

2. Общей для всей нервной и мышечной систем чертой и, судя по-всему, присущей из всех биологических объектов только им, является прерывистость излучения по времени, повидимому, порядка 200 вспышек в секунду. В дальнейшем изложении мы не раз будем возвращаться к этой очень важной характеристике нервного излучения, здесь же мы остановимся только на методике обнаружения прерывистости.

Как известно из предыдущих глав, воздействие излучения на дрожжевой детектор гораздо эффективнее при так называемом фракционировании излучения, т. е. при искусственно созданной путем включения вращающегося диска с секториальными вырезами прерывистости.

В противоположность этому при первых же опытах с нервной системой выяснилось, что такое искусственное фракционирование обычно применяемого в других случаях ритма (150—200 мельканий в секунду) не только не облегчает обнаружение излучения, но, наоборот, как будто полностью заслоняет излучение.

Единственное возможное толкование сводилось к тому, что нервно излучение по своей природе прерывисто и что ритм вспышек близок к ритму искусственного фракционирования, накладывание которого в таком случае создавало интерференцию обоих прерывистых процессов и этим самым симулировало отсутствие излучения.

При правильности этого предположения можно было, однако, ждать, что наложение значительно более частого ритма будет способствовать обнаружению излучения. Действительно, в этом случае из каждой вспышки нервного излучения вырезалось бы несколько более коротких, т. е. естественный ритм излучения был бы только заменен более частым. Специально произведенные опыты с ритмом прерывистости порядка 2000 в секунду дали полное подтверждение этому предположению. Другими словами, мы располагаем экспериментальным доказательством прерывистости нервного излучения с ритмом порядка 150—200 в секунду.

а) Периферические нервы

Наиболее удобным объектом для изучения митогенетического симптома возбуждения является седативный нерв лягушки. Опыты производились по возможности в доступных для экспериментирования физиологических условиях, частью на живой или только декапитированной (для иммобилизации) лягушке, на кото-

рой обнажался небольшой участок нерва, частью, при более сложных опытах, на нервно-мышечных препаратах.

Сохранение органической связи во всяком случае с периферическими органами — мышцами — является, как мы увидим в дальнейшем, необходимым условием для возникновения митогенетического симптома.

Излучение седалищного нерва изучалось при различных раздражениях: фарадизации, механическом раздражении, травме. Целью этих опытов было выяснение спектрального состава излучения, показавшего, что изменение качества раздражения вызывает резкие изменения спектров излучения. Этот уже давно известный, необычайно важный факт, установленный Календаровым (13), будет подробно разобран во второй части этой главы, посвященной вопросу о многообразии митогенетического симптома. Здесь нас интересует другая сторона спектрального анализа — не зависимость спектров от характера раздражения данного нерва, а распределение спектральных полос по отдельным нервам при каком-нибудь данном состоянии возбуждения.

Для выяснения этого вопроса изучался спектральный состав излучения различных нервов, находящихся в состоянии тонического возбуждения. Выяснилось, что спектры излучения нервов, входящих в состав седалищного нерва, например, *n. peroneus* и *n. tibialis*, и более тонких веточек как седалищного нерва, так и этих двух основных веток, более бедны по спектральному составу и могут быть рассматриваемы как отдельные слагаемые всей совокупности полос, входящих в спектр излучения седалищного нерва. Для предварительного изучения этого явления была выделена так называемая пептидная компонента излучения, наиболее богатая по количеству полос. Закономерность распределения полос даже на этом искусственно ограниченном спектральном материале выяснилась довольно определенно. Именно *n. peroneus* и тоненькая нервная веточка, расположенная в бедре и выходящая непосредственно из седалищного нерва, иннервирующая если не одну, то во всяком случае небольшую группу экстензорных мышц, давали спектр излучения одного типа (рис. 15). Характерным для него является то, что из 9 пептидных полос, разбросанных по всей митогенетической области, присутствуют только длинноволновые. Но внутри этого типа между *n. peroneus* и тонкой экстензорной веточкой существует различие: спектр *n. peroneus* состоит из двух полос: 2340—2350 Å и 2410—2420 Å, а спектр тонкой экстензора из одной 2400 Å.

Таким образом, мы можем говорить о типе экстензорного спектра, но должны считаться с индивидуальными различиями внутри этого типа для каждого отдельного нерва.

Спектры *n. tibialis* и тоненькой бедренной веточки, иннервирующей, очевидно, небольшую группу флексорных мышц, во всяком случае резко отличаются от экстензорного типа спектров.

В спектре *n. tibialis* присутствуют три пептидные полосы, находящиеся в различных участках митогенетической области: 2 030—2 040 Å и 2 120—2 130 Å, 2 410—2 420 Å. В спектре тонкой ветки, иннервирующей флексоры, две полосы: 1 980—1 990 Å и 2 400—2 420 Å (рис. 16).

Таким образом, и в этом случае индивидуальные различия между отдельными нервами, несомненно, есть.

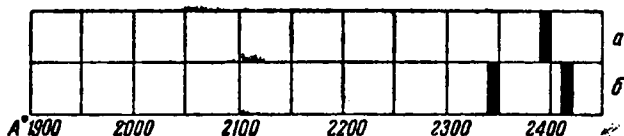


Рис. 15.

a — тонкая ветвь sciatic nerve; *b* — *n. peroneus* (оба в состоянии тонического возбуждения).

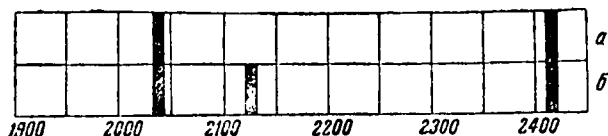


Рис. 16.

a — тонкая флексорная ветвь; *b* — *n. tibialis* (оба в состоянии тонического возбуждения).

Проведившееся А. А. Букатиной детальное исследование спектра излучения седалищного нерва, *n. peroneus* и *n. tibialis* и их разветвлений, показывает, что и остальные спектральные компоненты седалищного нерва нужно рассматривать как суммы отдельных слагаемых, которые распределены между отдельными ветками.

Так, например, весь набор гликолитических полос, соответствующих «тоническому излучению» седалищного нерва, обнаружен только на *n. tibialis*, все фосфатазные полосы только на *n. peroneus*. Кроме того, отдельные разветвления *n. peroneus* обладают отдельными фосфатазными полосами из этого общего набора полос.

Все описанные опыты производились на декапитированных лягушках. Для спектрального анализа достаточно обнажения небольшого, нужного для данного случая участка нерва.

Полученные результаты, недостаточно однозначные сами по себе для какого-нибудь вывода, открывают, однако, новые пути, т. е. делают возможным представление, доступное непосредственной экспериментальной проверке, а именно: не определяет ли спектральный состав тонического излучения не только качеством центральных импульсов, но и каким-то воздействием со стороны

периферии, в частности, со стороны мышц? (Говоря о воздействии со стороны мышц, мы, конечно, оставляем открытым вопрос, оказывает ли воздействие сама мышечная ткань или какое-то решающее в этом смысле значение имеют нервные окончания в мышцах.)

Предвосхищая дальнейшее, мы укажем на то, что экспериментальные исследования дали на этот вопрос положительный ответ, подробное изложение которого мы приводим ниже.

Модуляция нервов мышцами. Представление о модуляции нервов мышцами было введено П. Вейссом на основании его замечательных опытов, и наши данные и вытекающие из них выводы представляют дальнейшее развитие его результатов.

Однако некоторые его взгляды нам кажутся мало убедительными, и поэтому в качестве введения к этой главе мы дадим изложение его основных положений и попытаемся критически разобрать некоторые из них.

Занимаясь трансплантацией конечностей амфибий и наблюдая «гомологичные ответы» пересаженной конечности, Вейсс ввел представление о специфических отношениях, связывающих центр и периферию, основанных на принципе резонантности.

Он говорит: «Из многочисленных фактов вытекает, что каждая индивидуальная мышца может быть охарактеризована каким-то специфическим не изменяющимся отношением к центру. Это специфическое отношение обеспечивает доставку каждого центрального импульса по верному адресу. Несмотря на различные обстоятельства, индивидуальные мышцы неизменно реагируют в соответствии со своим именем» — бицепс с бицепсом, *m. anconeus* с *m. anconeus* и т. д. И только имя, а не необходимость конечности для туловища и не локализация мышцы относительно всей функциональной системы имеет значение. Конечно, название мышцы является только символом всей совокупности индивидуальных черт, отличающих мышцы друг от друга» «...но в первый раз на это открыл глаза феномен гомологического ответа, пока завший, что с названием каждой мышцы мы должны связывать нечто очень существенное, именно конституционную специфичность, определяющую ее отношение к нервной системе, постоянную селективную для каждой индивидуальной мышцы, идентичную для гомологических мышц и различную для не гомологических...» «Таким образом, мы считаем, что мышечная система состоит из многих дискретных индивидуальностей — не гомологических мышц, каждая мышца обладает дифференцированной, не адаптирующей специфичностью, преобладающей над всеми остальными взаимоотношениями, например, анатомическими связями и функциональными назначениями. Необходимо представлять себе совершенно ясно, что такой специфичностью обладает действительно каждая индивидуальная мышца, а не большие группы мышц, например, флексоры и экстензоры».

Таким образом, из разнообразного содержания возбуждения, распространяющегося от центра по нерву к данной конечности, каждая мышца этой конечности выбирает, т. е. «резонирует», только на одно возбуждение.

Таков был первоначальный взгляд Вейсса, но вследствие результатов, полученных им уже в первых работах, и на основании более ранних данных Детуилера (Detwiler) он пришел к заключению о том, что «импульсы, специфичные для данной конечности, продуцируются, очевидно, только в сегментах спинного мозга, соответствующих данной конечности, и не распространяются за пределы этих сегментов».

Позднее, развивая принцип резонантности, он ввел представление о модуляции нервов мышцами. С этой точки зрения резонаторами являются не мышцы, а нервы, иннервирующие данные мышцы. Мышцы модулируют нервы строго специфично, т. е. нерв, иннервирующий *m. gastrocnemius*, промодулирован каким-то одним вполне определенным образом, нерв, иннервирующий *m. semitendinosus*, другим и т. д. Таким образом, из возникающей в центре комбинации различных возбуждений каждый данный нерв выбирает какое-то или какие-то специфические для него, а следовательно, и для данной мышцы, возбуждения и проводит их к мышце.

С этой точки зрения способность нервного волокна к различным состояниям возбуждения ограничена, причем Вейсс вкладывает в представление о модуляции максимальное содержание, т. е. считает, что данный нерв в данных условиях, т. е. при соединении с данной мышцей, способен только на какое-то одно возбуждение. Таким образом, принцип резонантности, являющийся в своей первоначальной формулировке необычайно убедительным выражением многообразия возбуждений нервного элемента, теряет как будто в этом смысле свое значение.

Нам кажется, однако, что, несмотря на большую убедительность самого принципа модуляции, являющегося логическим продолжением представления Вейсса о взаимодействии центра и периферии, содержание, которое он вкладывает в это представление, является мало убедительным. К этому мнению нас приводят два различных основания: 1) некоторая логическая ошибка, допущенная, как нам кажется, Вейссом в его рассуждениях, и 2) экспериментальные данные, полученные при помощи митогенетического анализа, изложение которого дано ниже.

Вейсс пришел к представлению о модуляции всего нерва мышцей на основании данных, полученных им при помощи токов действия. Он обнаружил токи действия только на тех нервах задней конечности лягушки, раздраженной рефлекторно, мышцы которой находились в состоянии сокращения. «Это заставило нас заключить, пишет он, что периферические нервы проводят только те импульсы, которые предназначены для их эффекторных органов, и ничего больше».

На этом выводе мы хотим коротко остановиться. Как уже говорилось в введении, мы рассматриваем процесс возбуждения, как реактивный многочленный процесс, о котором мы можем составить представление по характеру окончательных проявлений нервной деятельности, т. е. в данном случае по реакциям эффекторных органов и по симптомам возбуждения, которым мы не придаем самодовлеющего значения, так как они дают нам только косвенные сведения относительно каких-то промежуточных членов процесса возбуждения. Другими словами, нам представляется очень вероятным, что наряду с членами процесса возбуждения, о которых мы имеем какие-то сведения, существуют члены, не связанные с возникновением симптомов, т. е. не дающие о себе

никаких сведений. Само собой разумеется, что распределение по времени тех и других, т. е. их последовательность, начиная с момента раздражения, остается для нас тоже неизвестной.

Например, одинаково возможна, как мы уже говорили выше, в процессе возбуждения и следующая последовательность процессов: раздражение вызывает в нервах данной конечности какое-то состояние X , не связанное с возникновением симптомов, это состояние распространяется до мышц и является для них сигналом того, что в спинномозговых центрах возникла какая-то определенная комбинация возбуждений. За время, проходящее между получением мышцами этого сигнала и реакцией их на него, в нерве возникает состояние возбуждения X' , которое, если мы будем исходить из данных Вейсса, сопровождается токами действия только в тех нервах, мышцы которых при данных рефлекторных актах будут находиться в сокращении. Другими словами, на основании этих общих соображений нам представляется вполне возможным, что, несмотря на то, что Вейсс регистрировал токи действия только на тех нервах, мышцы которых находились в сокращении, состояние X распространялось по всем нервам, иннервирующим конечность. Следовательно, с нашей точки зрения, на основании этих данных, прежний взгляд Вейсса о том, что по нервным волокнам распространяются различные состояния возбуждений, нисколько не теряет своей убедительности.

Мы перейдем теперь к изложению наших экспериментальных материалов (15), дающих, как нам кажется, убедительное доказательство модуляции нервов мышцами.

Экспериментальная проверка представления о значении мышц в определении спектра излучения нерва заключается в следующем. Пользуясь методикой Вейсса, разработанной им для пересадки нервов, мы пересаживали *n. peroneus* лягушки в *m. gastrocnemius* после предварительной перерезки и даже удаления кусочка *n. tibialis* (чтобы устранить возможность обратной реиннервации *n. gastrocnemius* *n. tibialis*). У каждого из пяти перенесших операцию экземплярнов приблизительно через три недели совершенно неподвижная вначале нога начинала функционировать. Первый случай был проанализирован через 21 день, второй через 27 дней, три остальных через шесть недель. Сокращение мышцы при электрическом раздражении вросшего нерва испытывалось перед каждым слывом и всегда давало положительные результаты. Воспалительные явления, наблюдавшиеся в первые недели, совершенно исчезали к этому времени.

Гистологической обработке подверглись два последних случая, показавших полную жизнеспособность вросшего нерва, т. е. прорастание многочисленных фибрилл в контакте с мышцей.

Спектральный характер тонического излучения пересаженного нерва, являющийся целью данных опытов, дал следующие результаты. Через 21 и через 27 дней замечались только изменения в спектре по сравнению со спектром нормального *n. peroneus*. Но через 6 недель спектр нерва принимал, очевидно,

скопчатый характер, совпадающий со спектром нормального *n. tibialis*, т. е. вместо типичных для *n. peroneus* двух полос в длинноволновой части всей области возникали пять, типичных для излучения *n. tibialis* полос (рис. 17). Результаты, как уже указывалось, касаются только пептидной компоненты излучения, поэтому относительно других

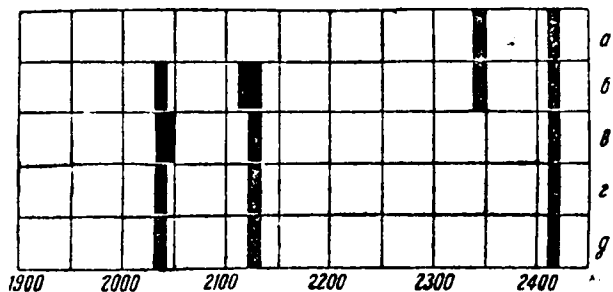


Рис. 17.

a — *n. peroneus*; *б* — *n. peroneus* через 20 дней; *в* — *n. peroneus* через 27 дней; *г* — *n. peroneus* через 45 дней; *д* — *n. tibialis*.

слагаемых вопрос о полном совпадении полос пересаженного *n. peroneus* с нормальным *n. tibialis* остается пока открытым.

Таким образом, полученные результаты, являясь экспериментальным подтверждением высказанного выше предположения, дают возможность для вполне определенного вывода: какое-то воздействие со стороны *m. gastrocnemius* во всяком случае в значительной степени определяет характер спектра пересаженного *n. peroneus*.

Дальнейшие эксперименты показали, что зависимость характера спектра от воздействия со стороны мышцы видна не толь-

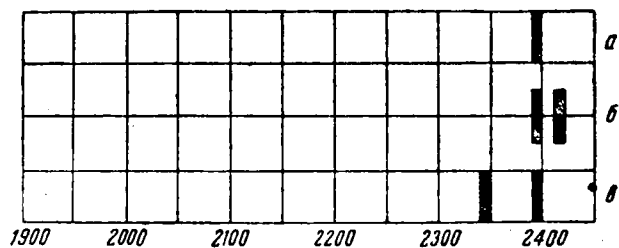


Рис. 18. Спектры тонкой экстензорной веточки при различных возбуждениях:

a — тоическое возбуждение; *б* — рефлекторное возбуждение; *в* — механическое возбуждение.

ко на тоническом излучении, но и при некоторых изученных нами адекватных раздражениях нерва.

Опыты производились на тонкой нервной веточке, расположенной в бедре лягушки и иннервирующей небольшую группу экстензорных мышц (рис. 18).

Как уже говорилось, спектр излучения при тоническом состоянии такого нерва сводится к одной линии, расположенной в длинноволновой части митогенетической области, т. е. этот спектр очень типичен и поэтому удобен для работы.

Применялось два адекватных раздражения: 1) рефлекторное — фарадизация контралатерального седалищного нерва и 2) механическое, многократное пощипывание пинцетом различных участков ипсилатерального седалищного нерва.

Спектры излучения при этих двух совершенно различных раздражениях и спектр тонического излучения были одного типа, т. е. спектральные полосы во всех трех случаях группировались в длинноволновой части всего митогенетического спектра.

Спектр излучения при тоническом возбуждении 2 390—2 400 Å

»	»	»	рефлекторном	»	2 390—2 400 Å; 2 410 — 2 420 Å
»	»	»	механическом	»	2 340—2 350 Å; 2 390—2 400 Å

Но в пределах этого типа разнообразие спектров сохранилось, т. е. каждое состояние возбуждения нерва было связано с излучением специфической только для него комбинации полос.

Таким образом, вся совокупность данных делает очень вероятным представление о том, что специфичность нервных спектров, во всяком случае в значительной степени, обуславливается специфичностью мышц, иннервируемых этими нервами.

Полученные спектральные результаты обязывали нас поставить следующий вопрос: выражается ли воздействие со стороны мышц на нерв только в каком-то влиянии на характер спектра или оно глубже и является необходимым для излучения нерва вообще? Целый ряд экспериментальных данных дает ответ на этот вопрос. Постановка всех опытов сводилась к следующему: различными путями достигалось выключение воздействия со стороны мышц и затем изучались митогенетические свойства нерва. Выключение воздействия со стороны мышц производилось следующим образом: 1) дистальная часть одной из лапок лягушки, начиная от голени, замораживалась в пробирке с физиологическим раствором, окруженной смесью льда с солью; отпрепарированный выше участок седалищного нерва охранялся от возможного охлаждения; 2) на периферический конец седалищного нерва накладывалась лигатура; 3) периферический конец седалищного нерва обжигался со всех сторон горячей иглой. Все опыты производились на нервно-мышечном препарате к сохранным спинным мозгом¹.

¹ Как уже говорилось выше, мы вынуждены пока оставить открытым вопрос о том, обуславливается ли воздействие самой мышечной тканью или нервными разветвлениями и окончаниями в мышце, поэтому, когда мы говорим, что при замораживании лапки нерв непосредственно не охлаждается, по это относится к исследуемому нами участку нерва, а не к нервным окончаниям в мышце.

Во всех трех случаях испытывалась способность нерва к излучению при адекватных раздражениях. Выяснилось, что ни непосредственная фарадизация нерва с замороженной лапкой, ни фарадизация другого седалищного нерва, т. е. рефлекторное раздражение первого, не дают излучения. Кроме того, при выключении мышщ нерв терял способность к проведению и вторичного излучения. Вторичное излучение обнаруживалось только на месте непосредственного облучения.

Наоборот, при фарадизации нерва с лигатурой на центральном конце, немного ниже Plexus, совершенно закономерно получалось излучение. Способность к проведению вторичного излучения при центральной лигатуре тоже не была нарушена.

Отсутствие излучения при фарадизации нерва с замороженной лапкой
(митогенетический эффект в ‰)

6, -4, 2, -3, 6, 0, -8, 2, -4, 0 -10.

Отсутствие излучения при рефлекторном раздражении такого же нерва

6, 0, 4, -4, -2, 4, 8, -8.

Излучение при фарадизации нервов с перерезанными периферическими или центральными концами

Центральный конец	Периферический конец
19	-5
40	-7
37	-0
	-2

Излучение при фарадизации нерва с лигатурой на центральных или периферических концах

Центральный конец	Периферический конец
36	2
41	5
21	-5

Проведение вторичного излучения на нерве с лигатурой на центральном или периферическом концах

Центральный конец	Периферический конец
44	-10
23	2
46	-12
32	-5

Проведение вторичного излучения на нерве при обжигании центрального или периферического концов

Центральный конец	Периферический конец
31	5
31	-5
32	-8
51	

Таким образом, очевидно, воздействие мышцы поддерживает нервы в каком-то специфическом состоянии, являющемся необходимым условием для возникновения излучения при раздражениях.

Наиболее физиологическим способом выключения воздействия мышц на нервы является применение кураре. Поэтому, в связи с полученными уже данными о модуляции нервов, эта методика работы, предложенная и разработанная А. А. Букатиной, представляла, несомненно, большой интерес.

Правда, действие кураре, судя по всем данным, обладает довольно строгой селективностью, т. е. нужно было ждать, что главным образом, если не исключительно, будут выключены концевые пластинки, т. е. воздействие на двигательные волокна нерва. Но как раз это свойство кураре представляло с нашей точки зрения ценность, так как давало некоторые возможности для подхода к анализу модуляции.

Постановка опытов производилась следующим образом. В спящей лимфатический мешок лягушки вводилось небольшое количество слабого раствора кураре. Приблизительно через час, т. е. при наступлении почти полной неподвижности, осторожно обнажались две небольшие нервные ветви, отходящие от седалищного нерва в области бедра: кожная п. *cutaneus femoris posterior* и мышечная *ramus collateralis*. В качестве раздражения той и другой ветки применялась легкая фарадизация, производившаяся на некотором расстоянии от изучаемого участка нерва (предварительно, как это делалось обычно, на нормальных экземплярах устанавливалась наиболее благоприятная экспозиция для обнаружения излучения при данном раздражении).

Полученные результаты были вполне однозначны. Мышечная ветвь, несмотря на раздражение, не излучала, т. е., как и следовало ожидать на основании предыдущих данных, выключение концевых пластинок нарушало способность к излучению. Кожная ветвь продолжала излучать.

Однако из этих данных непосредственно вытекает следующий вопрос: при фарадизации, т. е. при раздражении, несомненно захватывающем все волокна мышечного нерва, в состоянии возбуждения должны были притти не только двигательные волокна, но и проприоцептивные, однако их излучение, как мы видели, не было обнаружено.

Можно было предположить две возможности: 1) проприоцептивные волокна приходят в состояние возбуждения, но почему-то оно в данном случае не сопровождается излучением; 2) действие кураре распространяется в какой-то степени и на окончания проприоцептивных волокон в мышцах или даже непосредственно на сами волокна, снижая этим их способность к возбуждению и ослабляя интенсивность излучения.

Для решения этого вопроса была проведена серия опытов с специфичным для проприоцептивных волокон раздражением на седалищном нерве (обычно применяемое нами на основании данных Эдриана выпяжение *m. gastrocnemius* небольшим грузом). Путем сравнения экспозиций, необходимых для обнаружения излучения на

нормальных экземплярах и на экземплярах, подвергнутых действию кураре, удалось показать, что интенсивность излучения проприоцептивных волокон во втором случае была значительно снижена по сравнению с нормой. Другими словами, предположение о распространении действия кураре в какой-то степени и на проприоцептивные окончания или волокна, очевидно, больше соответствует истине.

Таким образом, сопоставление полученных результатов дает, во-первых, возможность некоторого углубления нашего представления о модуляции нерва мышцей. Действительно, исчезновение излучения мышечной ветви при действии кураре показывает, что во всяком случае и по двигательным волокнам, т. е. часто центробежным, как их принято рассматривать, распространяются какого-то рода центростремительные импульсы от мышц к центру, необходимые для поддержания того определенного состояния субстрата волокон, которое связано с их способностью к излучению.

Независимо от этого, непосредственно интересующего нас вопроса из данных Букатиной вытекает, что представление о характере действия кураре, судя по всему, нуждается в некотором расширении — наряду с полным выключением концевых пластинок кураре в какой-то степени снижает и нормальное функционирование проприоцептивных окончаний в мышце, а может быть, и самих волокон.

Снижение интенсивности излучения проприоцептивных волокон, наряду с сохранением полной или во всяком случае незначительно сниженной интенсивности излучения кожной чувствительной ветви, показывает, что проприоцептивная система занимает, очевидно, особенное место в ряду чувствительных нервов, т. е. что мышечное чувство является другой категорией понятия, чем кожная чувствительность.

Очевидным было, однако, что полученные результаты являлись лишь первой фазой применения митогенетического анализа к проблеме модуляции, требующей дальнейшего расчленения изучения.

Необходимо было, например, аналогично опытам с применением кураре, воспроизвести наши основные данные с перетяжкой и перерезкой нервов на двигательных и чувствительных ветках отдельно.

Для двигательных волокон концевым органом — рецептором центральных импульсов — являются мышцы, у чувствительных волокон, наоборот, концевым органом может быть назван центр, т. е. межпозвоночный узел или, вернее, соответственный участок спинного мозга.

Поэтому аналогичные опыты надо было проделать на чистых, т. е. чувствительных, нервах.

Наиболее удобными для этого оказались спинные кожные нервы лягушки, препаровка которых производится очень легко на живых экземплярах (достаточно, надрезав на спине кожу, отогнуть ее в виде лоскута вбок, внутренней поверхностью кверху, для того чтобы обнажить несколько сравнительно длинных и совершенно незатронутых кожных нервов). В качестве раздражения

применялось легкое фарадизирование нерва, производившееся приблизительно на расстоянии 15 мм от изучаемого участка. Применение более физиологического раздражения в этих опытах, например, воздействие какого-нибудь раздражающего фактора на кожу, было, к сожалению, невозможно, так как обязательным условием являлась сравнимость раздражений при обоих вариантах опытов, т. е. при перерезке и периферического, и центрального концов нерва. Каждый раз опыты ставились не раньше, чем через 10 минут после перерезки.

Результаты представлены в следующих цифровых данных¹.

Норма	Перерезка периферии	Перерезка центра			
50%/о(3')	30%/о(3')	—	—	—	—
30%/о	35%/о	2%/о(3')	-6%/о(5')	—	—
—	—	-8%/о(2')	2%/о(3')	0(5')	4%/о(8')
—	—	—	—	—	-2%/о(12')

Таким образом, мы видим, что опыты с чисто чувствительными нервами дают вполне однозначные результаты — излучения нерва при перерезке его центрального конца, несмотря на значительное увеличение экспозиции, шельзя было обнаружить, т. е. излучение чувствительных нервов обуславливается связью с центром, а не с периферией. Другими словами, наше представление о воздействии «воспринимающей станции» как будто подтверждается.

Вместе с тем, однако, мы имеем как будто резкое расхождение этих результатов с данными, полученными на седалищном нерве, так как в том случае перетяжка периферического конца нерва, т. е. выключение воздействия со стороны большой группы мышц, нарушала способность и чувствительных волокон к излучению.

Этот последний факт требовал более чистой экспериментальной проверки, и поэтому были проделаны следующие уже вполне однозначные с нашей точки зрения опыты. На декапированной, а в ряде случаев и на живых лягушках на одной лапке острожно обнажалась тонкая кожная веточка, ответвляющаяся от седалищного нерва (*n. cutaneus femoris posterior*), и испытывалось ее излучение как при целости всей нервной системы, так и при перерезке или при перетяжке периферического конца седалищного нерва. Преимущества этих опытов состояли в том, что, во-первых, кожная ветвь оставалась абсолютно незатронутой и, во-вторых, в противоположность предыдущим опытам, в данном случае применялись чисто физиологические раздражения, т. е. различные раздражения внешней поверхности кожи. Возможность физиологического раздражения представляла с нашей точки зрения большую ценность, так как только при этом условии можно было рассчитывать подойти ближе к анализу вопроса о значении мышцы для поддержания нормального функционального состояния нерва.

Результаты видны из таблицы на стр. 160.

Непосредственный вывод, который мы можем сделать из полученных результатов, может быть сформулирован следующим образом: способность к излучению чувствительного нерва, ответвляю-

¹ В скобках указана экспозиция в минутах.

Характер раздражителей	Н о р м а				Перерезка седалищного нерва ниже места отхода кожной ветки			
п/5H ₂ SO ₄ Груз в 20 г Пощипывание	25% — 35%	22% 35% 24%	24% 45% 30%	40% — 16%	8% — -3%	8% 2% -5%	-2% 13% 9%	-6% — 4%

щегося от смешанного нерва, исчезает при нарушении целостности смешанного нерва. Однако сопоставление этих данных с предыдущими позволяет нам перейти от такой мало говорящей формулировки к другой, расширяющей и до некоторой степени углубляющей наше представление о значении периферии для излучения нервов. Разберем все обстоятельства опытов шаг за шагом.

Достаточно вспомнить, что и в опытах со смешанным нервом, и с чисто чувствительными спинными кожными нервами способность к излучению исчезала только при перерезке одного определенного конца нерва, периферического в первом случае и центрального во втором, т. е. что даже непосредственная травматизация нерва сама по себе не влияла на излучение.

Из этих же данных вытекает, что перерезка именно периферического конца седалищного нерва (помимо самого факта травматизации) не может сама по себе отразиться на излучении чувствительных волокон.

Следовательно, толкование последних результатов возможно как будто только с одной определенной точки зрения, высказанной нами уже раньше: нарушение способности чувствительной ветки к излучению вызвано отделением седалищного нерва от мышц, т. е. прекращением воздействия со стороны мышц на нерв.

Но из этого предположения логически вытекает дальнейшее: воздействие мышц, захватывая весь нейрон, распространяется и на соответственные спинномозговые центры, которые в свою очередь действуют каким-то образом на чувствительные волокна.

Остановимся на этом представлении подробнее, хотя очевидно, что мы должны здесь высказываться с большой осторожностью и не выходить из рамок вероятных предположений.

Связь нерва с мышцей осуществляется, как известно, концевыми пластинками двигательных волокон и окончаниями проприоцептивных волокон. Следовательно, возможность воздействия мышцы и через те, и через другие окончания аргюи не может быть исключена. Действительно, вполне возможным, например, является то, что коллатерали проприоцептивных волокон, выходя из мозжечкового пути, образуют в сером веществе задних рогов спинного мозга тесную связь с разветвлениями чувствительных волокон, т. е. что непрерывные центростремительные импульсы мышечного чувства оказывают какого-то рода воздействие и на чувствительные нейроны той же области.

В пользу этого представления говорят, как будто, и изложенные выше данные Букатиной, показывающие, что, несмотря на выключение под действием кураре двигательных волокон мышечной ветки, излучение кожного нерва сохранилось. Возможным поэтому представляется, что сохранение способности к излучению было обусловлено каким-то, правда ослабленным, но все-таки продолжающимся воздействием со стороны проприоцептивной системы мышечной ветки.

С другой стороны, помимо описанных уже данных с кураре (первый вывод), мы имеем еще некоторые экспериментальные доказательства того, что мышца оказывает непосредственное воздействие и на двигательные волокна, т. е. что импульсы распространяются по ним не только в центробежном направлении, но что непрерывный поток какого-то рода импульсов идет и в центростремительном направлении. Мы исходим при этом из следующих данных.

Испытывалось излучение седалищного нерва после перерезки чувствительных корешков. Результаты были положительные, т. е. при раздражении нерва обнаружилось ясное излучение. Вместе с тем экспериментально было уже показано, что перерезка проксимальных концов афферентных путей нарушает их способность к излучению. Другими словами, из всех трех категорий волокон — экстероцептивных, проприоцептивных и двигательных — способность к излучению могла быть сохранена только двигательными.

Производившаяся после этого перерезка периферического конца седалищного нерва полностью уничтожала, соответственно прежним данным, способность нерва к излучению. Другими словами, во всяком случае, и по двигательным волокнам распространяются импульсы центростремительного характера, обуславливающие способность нерва к излучению. (Специальные опыты показали, что десимпатизация не влечет за собой потери способности к излучению.)

За последнее время вопрос о воздействии мышц на нервы получил дальнейшее развитие в двух направлениях.

1. Экспериментально было показано, что физиологическое излучение мышц, во всяком случае в спокойном состоянии, судя по всему, деградационного характера. В пользу этого говорят различные данные: «вспышка» излучения при охлаждении мышц, прерывистость «спокойного» излучения (порядка 100—200 в минуту) и разнообразие спектров различных мышц. Другими словами, и в мышцах наряду с несомненными равновесными структурами, мы должны предположить наличие какого-то «неравновесного молекулярного аппарата».

Очевидно, что эти данные говорят в пользу той предпосылки, которая лежит в основе всех наших построений, — о непосредственной молекулярной связи между нервными и мышечными волокнами.

2. Была показана возможность перехода возбуждения с двигательных корешков на чувствительные. На этих

опытах, не укладывающихся в рамки основных классических представлений, мы остановимся несколько подробнее (за последнее время целую серию работ в этом направлении напечатал Ллойд).

На декапитированной лягушке осторожно с одной стороны вскрывался позвоночный столб на уровне расположения корешков задней конечности. После осторожного удаления известкового покрова задние корешки слегка оттягивались в сторону, открывая, таким образом, соответствующие передние корешки. Затем под задние корешки подводились тонкие пластинки слюды, закрывающие и двигательные корешки, и обнаженный участок спинного мозга. Таким образом, на расположенный сверху детектор могло попадать излучение только задних корешков. Раздражение передних корешков производилось механическим путем — прикосновением тонкой стеклянной иглы под пластинкой слюды. Результаты получились вполне однозначные: при раздражении двигательных корешков наблюдалось ясное излучение чувствительных. Контрольные опыты показали, что без раздражения двигательных корешков интенсивность излучения чувствительных корешков значительно ниже, т. е. при соответствующих экспозициях практически равна нулю.

Таким образом, показано, что мышца посылает по двигательным волокнам центростремительные импульсы, захватывающие не только весь двигательный нейрон, но переходящие от двигательных клеток на окончания чувствительных волокон, импульсы, необходимые для организации и поддержания того состояния субстрата волокон, которое связано со способностью к излучению.

Вся совокупность данных позволяет нам прийти к следующему выводу. Принцип модуляции нервов является более широким понятием, чем это вытекало из представлений Вейсса и из наших первых экспериментальных данных. Наиболее существенное содержание этого понятия, как нам кажется, заключается в том, что неправильно было бы рассматривать состояние субстрата возбуждения нервов, т. е., иначе говоря, анализировать возбуждение, независимо от центров и от периферии. Нормальное функциональное состояние нервов (мы имеем в виду смешанные нервы как наиболее сложный и общий случай) поддерживается непрерывным взаимодействием периферии и центров. К этому представлению мы вернемся еще раз в главе об анализе субстрата возбуждения.

Однозначность полученных результатов, а главное возможность в последних опытах чисто физиологического раздражения *n. cutaneus femoralis posterior* позволяла как будто с большой надеждой на успех изучить вопрос о параллелизме митогенетических и физиологических явлений.

Другими словами, наша очередная задача состояла в выяснении того, не теряет ли кожная ветка при перетяжке периферического конца седалищного нерва, наряду со способностью к излучению, и

свою нормальную возбудимость. Экспериментально этот вопрос мог быть разрешен следующим образом. Нужно было подыскать какой-нибудь удобный для регистрации рефлекс, вызываемый раздражением данной кожной ветки, и изучить его на нормальной лягушке и на лягушке с перетянутым седалищным нервом¹.

На довольно большом материале (опыты ставились зимой 1940/41 г. и весной 1941 г.) выяснилось, что правильные хорошо воспроизводимые рефлексы получаются только не на очень

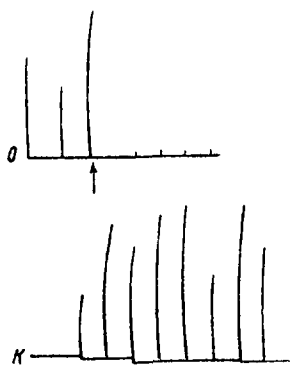


Рис. 19. Записи сокращений *m. semitendinosus* на миографе:

верхняя — подопытная нога; нижняя — контрольная.

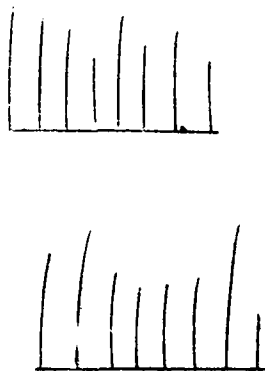


Рис. 19а. Записи сокращений обеих мышц у неоперированной лягушки.

возбудимых экземплярах, и только в этих случаях мы получали определенный положительный эффект. Наиболее удобным для работы рефлекторным актом являлось сокращение ипсилатерального *m. semitendinosus* при пощипывании участка кожи, соответствующего месту разветвления *n. cutaneus*.

Опыты производились следующим образом. Живая лягушка укреплялась в вертикальном положении. На небольшой обнаженный участок одного из седалищных нервов в области колена накладывалась лигатура. Концы сухожилий обеих *m. semitendinosus* присоединялись к рычажкам для записей. Таким образом, при поочередном раздражении *n. cutaneus* то с одной, то с другой стороны можно было получить записи сокращений мышца ипытной, и контрольной лапок (рис. 19 и 19а). Само собой разумеется, что наличие хорошего контроля являлось обязательным условием опыта. Поставленные на 36 лягушках опыты можно разбить на три группы:

¹ Нужно подчеркнуть, что условия опытов были не максимально благоприятны. Дело в том, что перетяжка седалищного нерва в области колена выключала только мышцы голени и конца лапки, т. е., несмотря на выключение значительной группы мышц, воздействие со стороны мышц бедра оставалось в силе. Мы сознательно, однако, шли на это, считая, что для принципиального решения вопроса выключение нижней группы мышц должно быть достаточно и не желая, кроме того, излишней травматизации лягушки.

1) 18 экземпляров дали ясно выраженный положительный эффект, т. е. в то время, как в течение 30—40 минут (обычная длительность опыта) контрольная мышца давала на каждое раздражение ясно выраженный эффект, опытная мышца, хорошо реагирующая в первые минуты опыта до наложения лигатуры, через несколько минут после перетяжки (первое испытание производилось обычно непосредственно, а через 3—5 минут) не реагировала вообще или давала время от времени при повторных раздражениях значительно более слабые, нерегулярные реакции.

2) 13 экземпляров со слабо выраженным, но как будто все-таки несомненным эффектом. Полного отсутствия реакции со стороны опытной мышцы не наблюдалось, но возникал целый ряд показателей, указывающих на ее ненормальное функционирование: быстро наступающее утомление (повторное раздражение уже не давало эффекта); меньшая интенсивность сокращения, нерегулярность ответа и т. д.

3) Наконец, 5 экземпляров дали отрицательный результат, т. е. не показали разницы между опытной и контрольной мышцей. Однако более внимательный анализ этих случаев показывает, что только в одном из них мы имеем, действительно, настоящий отрицательный результат. Четыре остальных случая являются мало убедительными хотя бы уже потому, что способность к рефлексам на обеих лапках очень скоро исчезала (минут через 10), т. е. легко можно было предположить, что разница между контролем и опытом не могла еще проявиться.

Проведенные специальные контрольные наблюдения показали, что, как правило, при хорошем подборе материала обе мышцы дают более или менее одинаковые рефлекторные сокращения в течение одного часа или даже дольше.

В дальнейшем мы перешли к более однозначному плану опытов: вместо выключения (перерезки или перетяжки) смешанного седалищного нерва мы перешли к перерезке его двигательных корешков. Испытание соответственных рефлексов производилось при этом, конечно, на контралатеральных участках. При соблюдении необходимых условий результаты этой серии совпали по существу с первоначальными.

Сопоставление физиологических опытов с митогенетическими данными, полученными на той же кожной ветке, дает, как нам кажется, полное право для следующего вывода.

Выключение воздействия со стороны большой группы мышц, иннервируемых разветвлениями седалищного нерва, нарушает не только нормальный лучевой режим всей системы нерва, включая и чувствительные ветки, но и их способность к нормальному функционированию, т. е. к возникновению состояния возбуждения вообще или во всяком случае к полноценному возбуждению. Этот вывод представляет интерес и с другой точки зрения, — он дает ответ на давно стоящий перед нами принципиальный вопрос.

Мы имеем в виду «прочность связи» (если можно так выразиться) между различными функциональными состояниями нервной системы и излучением. Приведенные результаты показывают, что неправильно было бы рассматривать излучение как широко распространенное явление, возникающее при любых функциональных состояниях нерва. Митогенетический симптом является чувствительным симптомом, отражающим качественное многообразие возбуждений, но связанным, судя по всему, только с таким характером изменений субстрата, которое можно определить как возникновение полноценного возбуждения. Во всяком случае это представление относится к «физиологическим» возбуждениям, т. е. к возбуждениям, возникающим при применении физиологических раздражителей.

Определение понятий «полноценного возбуждения» или «нормального функционирования» нервной системы вытекает из последней группы опытов.

Типичным для наблюдаемых нами в этом случае рефлекторных реакций на опытной лапке являлось не ослабление всего рефлекторного акта, а его невоспроизводимость, выражающаяся в некоторых случаях даже в возникновении новых проявлений, т. е. в усложнении всей реакции. Таким образом, если данное состояние рефлекторного акта, вследствие созданных нами экспериментально ненормальных условий, мы можем охарактеризовать как состояние «неполноценного возбуждения», то в противоположность ему под понятием «полноценного» возбуждения в более широком смысле слова мы подразумеваем такие состояния субстрата, которые связаны с вполне определенными, а главное воспроизводимыми проявлениями нервной деятельности, характеризуемыми целым рядом параметров.

Например, возбуждение рефлекторной дуги может быть названо полноценным, если при воздействии однотипных раздражителей возникающие каждый раз рефлекторные акты обладают воспроизводимыми характерными чертами: сокращение именно данной мышцы при отсутствии реакции со стороны других, приблизительно одинаковый латентный период, амплитуда сокращения и т. д.

Напротив, в последней серии опытов рефлекторные акты возникали лишь изредка, несмотря на повторные однотипные раздражения, причем они имели разнообразный характер: в большинстве случаев сокращался не *m. semitendinosus*, а расположенные рядом мышцы, не реагирующие при нормальных условиях; иногда, наряду с сокращением ипсилатеральных мышц, сокращался и контралатеральный *m. semitendinosus*; в некоторых случаях реагировали только контралатеральные мышцы; кроме того, как правило, наблюдались колебания в амплитудах сокращений.

Возникает ли излучение только при полноценном возбуждении и при применении искусственных раздражений, например, фарадизации нерва, и можно ли при этом вообще говорить о полноценности возбуждения, остается для нас пока открытым вопросом.

Мы рассматривали до сих пор вопрос об излучении нерва во время состояний заведомых возбуждений, т. е. во время раздра-

жений, не касаясь так называемого излучения покоя, т. е. излучения, связанного с тоническим состоянием нерва. Целый ряд данных показывает, однако, что между изменениями субстрата нервных волокон, связанных со «спокойным излучением» и с излучением возбужденных состояний, существует, судя по всему, большое различие, так как, например, выключение действия со стороны мышц, не отражаясь на способности нерва к «спокойному излучению», нарушает в то же время, как мы знаем, его способность к излучению, связанному с раздражениями.

Мы ограничимся здесь, однако, только упоминанием этого вопроса, не вдаваясь в его подробное рассмотрение.

Излагая принцип модуляции, мы не ставили себе пока вопроса о том, каким образом в одном случае мышцы, а в другом центры поддерживают способность нервов к излучению.

Очевидно, что анализ этого вопроса должен быть неразрывно связан с общим анализом механизма излучения нервной системы, т. е. с переходом от общей схемы митогенетического излучения как сенсibilизированной флюоресценции к более конкретной для данного случая.

Построение каких-либо представлений в этой области мы считали бы пока еще преждевременным, поэтому этот вопрос останется открытым и в дальнейшем изложении, где мы переходим на язык молекулярных констелляций и рассматриваем излучение нервной системы как депрaдационное.

б) Мозговая кора

Митогенетические явления в коре изучались, во-первых, при различных раздражениях органов — зрения, слуха и равновесия, а также при болевых раздражениях (электризация кожи), и, во-вторых, при так называемом покое, т. е. при возможной изоляции от внешних раздражений. Нам кажется, что последнее состояние коры нужно рассматривать как непрерывно меняющуюся комбинацию слабых разнообразных возбуждений внутреннего происхождения. Излучение возникает и в том и в другом случае. Мы можем его охарактеризовать по двум признакам: 1) по многообразию спектрального состава, соответствующего разнообразию раздражений, — вопрос, который мы будем специально рассматривать ниже, и 2) по интенсивности излучения, которое, как и следовало ожидать, при сильных раздражениях больше, чем при слабых.

Остановимся несколько подробнее на результатах.

Световое раздражение. Освещение одного глаза ярким источником света вызывает излучение коры *area striata*. Этот факт, обнаруженный независимо Маринеско (Marinesco) (16) и Брайнесом (17) на кроликах и нами на лягушках (18), подробно изложен в специальных работах, и цифровой материал мы приводить здесь не будем. Можно считать твердо установленным, что излучение возникает в перекрестной по отношению к освещаемому глазу половине полушарий, но что более строгая

локализация излучения не наблюдается, т. е., помимо зрительной зоны, излучают и прилегающие к ней участки коры, например, *area parietalis*.

Обнажение полушарий у лягушки производилось большей частью на отрезанной голове. Специальными опытами было установлено, что способность мозга к излучению при физиологических раздражениях сохраняется на отрезанной голове в течение 40 минут—1 часа и что спектральный состав излучения вполне соответствует спектрам, полученным в опытах *in vivo*. У кролика удаление нужного для данного опыта участка черепных костей производилось всегда под эфирным наркозом. Кровотечение, как правило, не возникало. Кожа зашивалась и животному давался 2—3-часовой отдых.

После этого уже без наркоза осторожно снималась *dura mater*, сильно поглощающая излучение, и в том случае, если сосуды не были гиперемированы, что обычно и бывало, ставился соответствующий опыт.

Несколько более сложной операцией является обнажение даже небольшого участка одного из полушарий мозжечка вследствие часто наступающего сильного кровотечения. Поэтому опыты ставились только с теми животными, из которых кровотечения удавалось избежать. Вследствие того, что мозг является одним из очень сильных излучателей, обнажение даже совсем небольшого участка мозговой поверхности является вполне достаточным.

Звуковое раздражение. Сильный звук (электрический звонок) вызывает излучение коры полушарий. Опыты производились на кроликах.

Экспозиция (в секундах)	Эффект (в %)
30	23
30	25
30	20

Излучение, возникающее при звуковом возбуждении, так же как и при световом, не локализовано, во всяком случае оно возникало на изучаемых нами обычно *a. striata* и *a. parietalis*. Однако необходимым условием для обнаружения «звукового» излучения является возможное выключение световых возбуждений. С этой так называемой «интерференцией» излучения коры при подаче двух различных раздражений приходится считаться. Одновременно производящееся освещение глаза лягушки и фарадизация седлищного нерва также приводят к исчезновению излучения полушарий. Механизм этого явления представляется нам пока неясным.

Раздражение органа равновесия. К той же категории относится раздражение органа равновесия, вызывающее излучение мозжечка. При постановке этих опытов мы исходили из того, что орган равновесия находится в состоянии относительного покоя при нормальном положении головы и всего туловища животного (кролик спокойно лежал на операционном столике), состояние сильного возбуждения может быть вызвано резким изменением положения головы (искусственно поддерживающийся наклон).

Результаты подтвердили наше предположение. Действительно, при нормальном положении головы излучение или отсутствовало, или было подпороговой интенсивности, при наклоне излучение возникало, причем, судя по довольно короткой экспозиции (порядка 30"), необходимой для обнаружения эффекта, интенсивность его была довольно велика.

Нормальное положение головы	Наклон головы
— 9	23
4	18
— 3	27
5	30
— 8	27
	31

Болевое раздражение. Фарадизация кожи кролика вызывает излучение и полушарий, и мозжечка. (Электроды накладываются на смоченную физиологическим раствором поверхность кожи на боку.) Интенсивность излучения при таком раздражении была одного порядка с излучением при световом и звуковом возбуждении.

Экспозиция	Полушария	Мозжечок
30 секунд	25%	21%
30 »	30%	32%

Приведенный материал является, как нам кажется, вполне достаточным для установления самого факта излучения мозговой и мозжечковой коры при различных раздражениях. Мы можем теперь перейти к главной задаче, которая заключается в выяснении многообразия проявлений митогенетического симптома возбуждений.

2. Многообразие митогенетического симптома возбуждения

а) Периферические нервы

Мы попытаемся показать адекватность, т. е. пригодность митогенетического симптома для анализа субстрата возбуждения. Необходимым качеством такого симптома, как мы уже говорили выше, должно являться многообразие форм его проявлений. Только в этом случае симптом будет действительно являться показателем многообразия состояний нервного аппарата. В связи с этим, наряду с новым материалом, в изложение войдут также некоторые основные старые, уже опубликованные данные.

Спектры излучения. Многообразие митогенетического симптома возбуждения выражается главным образом в разнообразии спектров излучения при различных функциональных состояниях, поэтому на спектральном материале мы остановимся довольно подробно, ссылаясь при этом отчасти уже на опубликованные раньше данные.

Основной результат спектрального анализа заключается в следующем. Периферическая нервная система и зрительная доля мозговой коры, лучше всего изученная, дают при различных раздражениях различные спектры излучения (рис. 20).

Более слабое по интенсивности и специфическое по спектральному составу излучение дают и нервы, и кора в так называемом состоянии покоя.

Разберем сначала спектральные данные периферических нервов. Различные применявшиеся раздражения, как искусственные (фармадизация, механическое раздражение, травма-перерезка) (опыты Календарова, 19), так и физиологические—проприоцептивные (опыты Л. Д. Гурвич, 20) и рефлекторные (данные Цоглиной, 21),—изучаемые на седалищном нерве, еще не совсем законченные спектры излучения кожных спинных нервов при различных раздра-

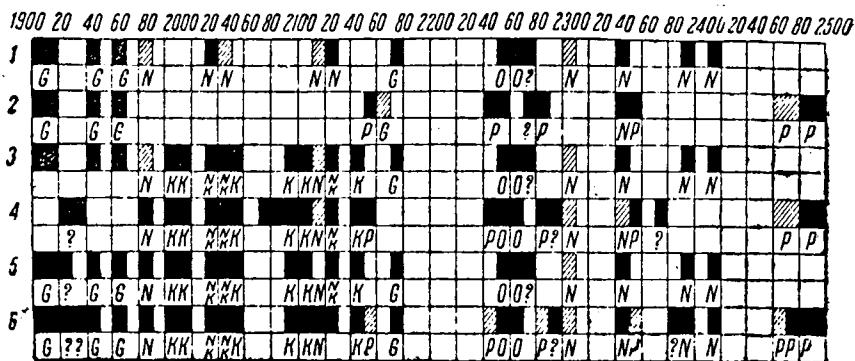


Рис. 20. Спектры излучения возбужденного седалищного нерва лягушки. Адекватные искусственные возбуждения.

1 — нерв в состоянии «покоя»; 2 — механическое возбуждение (место раздражения); 3 — механическое возбуждение (на расстоянии 20 мм от места раздражения); 4 — фармадизация (место между электродами); 5 — фармадизация (расстояние 20 мм от электродов); 6 — травма (перерезка нерва) 20 мм расстояния от места травмы (по Календарову).

жениях кожи (опыты Белова), дают результаты, приводящие к следующему выводу.

Спектры отличаются друг от друга в зависимости от характера раздражения, оставаясь в то же время строго постоянными при каждом из них.

Другими словами, симптомы возбуждения при различных раздражениях качественно различны. Эта формулировка подводит нас к капитальному выводу, на котором главным образом и базируется принципиальная разница в подходе к проблеме возбуждения между митогенетической и классической нервной физиологией. Мы можем сказать следующее: состояния возбуждения нерва, вызываемые различными раздражителями, различны; другими словами, мы должны говорить не о «нервном возбуждении», а о «нервных возбуждениях» (во множественном числе).

Особенно демонстративны в этом отношении результаты Белова, показавшего резкое различие спектров кожного нерва при раздражении одного и того же участка кожи слабой кислотой и слабой щелочью. Действительно, было бы в этом случае совершенно неестественным предположение об излучении двух независимых групп волокон: одной возбуждаемой специально воздействием кислоты, и другой — воздействием щелочи (аналогично представлению

о возбуждении различных групп волокон при применении температурных раздражителей). Различие спектров может быть обусловлено лишь тем, что при применении различных, в данном случае чисто физиологических, раздражителей одни и те же нервные волокна приходят в качественно различные состояния возбуждений.

Этот вывод обоснован еще строже тем, что многообразие состояний возбуждения присуще даже любому отдельному волокну.

Такое доказательство необходимо, потому что всегда возможно возражение, что, несмотря на разнообразие состояний возбуждения, весь репертуар возбуждений распределяется между различными категориями волокон, причем каждое из них способно только на одно определенное возбуждение.

Экспериментальное доказательство основано на следующем (опыты Шамариной, 13). Нерв раздражается (фарадическим током двух интенсивностей: надпороговым и подпороговым (для мышц). Вертикальные электроды прижимаются к поверхности нерва, обращенной к коллиматору спектрографа (что является обязательным условием данного опыта). Таким образом, можно быть уверенным, что при любой интенсивности ток проходит в первую очередь через волокна, которые подвергаются изучению. Выяснилось, что при переменном раздражении обеими интенсивностями спектр излучения нерва менялся (рис. 21).

Таким образом, эти данные абсолютно несовместимы с представлением о том, что любое данное волокно способно на возбуж-

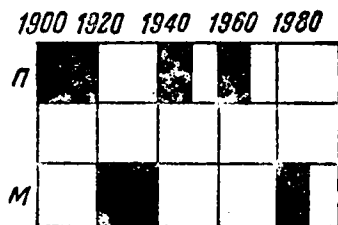


Рис. 21. Часть спектра излучения седалищного нерва при подпороговом раздражении (п) и при максимальном раздражении (м), фарадизации (по Шамариной).

дение лишь одного рода, и приводят к выводу, что чисто количественная оценка возбуждения неприменима или недостаточна, так как при различной интенсивности раздражения мы получаем качественно различные возбуждения (различия спектрального состава).

Этот факт нам представляется несовместимым с законом «все или ничего».

Периоды излучения. Более детальное изучение спектров излучения показало, что интенсивность отдельных спектральных компонент по длине нерва колеблется.

Другими словами, для нерва характерно определенное пространственное распределение максимумов и минимумов излучения. Особый интерес заключается, однако, в том, что характер этого пространственного распределения является функцией от качества

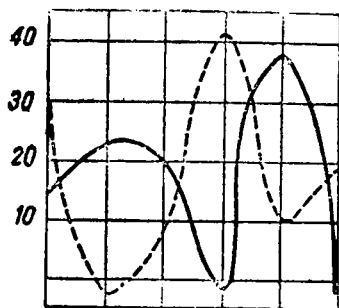


Рис. 22. Периоды излучения при возбуждении проприоцептивных волокон седалищного нерва: сплошная линия — гликолитическое излучение; пунктирная — фосфатолитическое излучение.

возбуждения. Распределение интенсивностей мы можем выразить в виде кривой, поэтому мы говорим, что в нервной системе мы имеем дело с «периодами излучения» (22).

Принцип обнаружения периодов излучения заключается в следующем. При помощи специального метода вторичного излучения оказывается возможным изучить одновременно процессы, происходящие в нескольких (шести) точках, отстоящих друг от друга на расстоянии приблизительно в 1,2—1,5 мм, т. е. детально проанализировать участок нерва протяжением приблизительно в 8 мм. При этом, правда, возможно анализировать максимум две или три спектральные компоненты одновременно, но этого оказывается достаточно для выяснения правильной периодичности изменений интенсивности излучения. Метод основан на резонантном вторичном излучении различных растворов — глюкозы, нуклеиновой кислоты белка и т. д. (ср. стр. 185, рис. 31 и 32).

На седалищном нерве лягушки было изучено три рода раздражений: два физиологических — проприоцептивное и рефлекторное (фарадизация нерва, контрлатерального по отношению к изучаемому) и одно искусственное (непосредственная фарадизация данного нерва) (рис. 22). В каждом из этих состояний изучение отдельных компонент давало правильные и, по видимому, более или менее специфичные для данного состояния периоды.

в) Мозговая кора и зрительный нерв

Спектры. Детальный спектральный анализ излучения мозговой коры и зрительного нерва был произведен при световом возбуждении. Опыты производились на лягушках. Источником света являлся ярко и равномерно освещенный белый экран. Спектры, как видно на рисунке, довольно значительно отличаются друг от друга (13) (рис. 23).

Анализ изменений спектров при различных световых раздражениях был произведен только на полушариях. Для этого однородное светлое поле было заменено различными цветными полями: синим, красным и зеленым. Несмотря на более грубое расчленение излучения на отдельные спектральные области, разница между раздражениями видна совершенно отчетливо (23) (рис. 24).

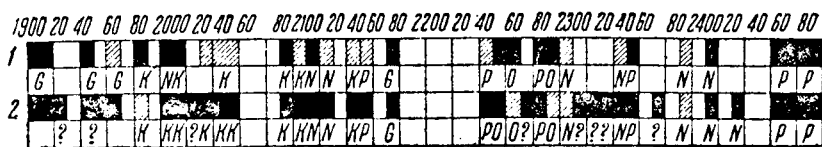


Рис. 23. Адекватные физиологические возбуждения.

1 — мозговые полушария лягушки при освещении глаз; 2 — зрительный нерв лягушки при освещении глаз; G — составные полосы гликолитического спектра; N — составные полосы пептидного спектра; P — полосы фосфатлитического спектра; K — полосы кретинифобата; O — полосы окислительного спектра; L — полосы неизвестного происхождения.

Периоды излучения. Зависимость конфигурации периодов излучения от качества раздражения выражена на зрительном нерве и на мозговой коре очень ясно (13).

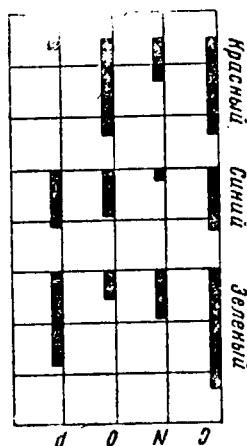


Рис. 24. Слагаемые спектра излучения полушарий лягушки при различных монохроматических освещениях глаз.

Методика опытов с зрительным нервом заключалась в основных чертах в следующем. На отрезанной голове лягушки со стороны роговой полости обнажались не только chiasma optic, как это было сделано при изучении излучений, но и один из зрительных нервов, до места его выхода из глазного яблока. Отсепарированный участок нерва равнялся, таким образом, приблизительно 4—5 мм, т. е. делал возможным изучение распределения интенсивности на 6 точках, находящихся друг от друга на расстоянии приблизительно в 0,6—0,8 мм. Достигалось это при помощи специального приспособления, состоящего из системы капиллярных трубок, расположенных непосредственно рядом друг с другом и наполненных раствором различных, в зависимости от цели опыта, веществ (глюкозы, белка и т. д.) (рис. 25), являющихся вторичными излучателями.

Изменение качества возбуждения достигалось изменением зрительных полей. Перед глазом помещалось или равномерное светлое поле зрения, или светлое поле с темным рисунком. Разница между распределением максимумов и минимумов излучения, т. е. между конфигурациями периодов, отчетливо видна (рис. 26).

Таким образом, в этом случае мы как будто с полной уверенностью можем говорить об однозначной зависимости между качеством возбуждения и конфигурацией периодов излучения.

Периодичность излучения мозговой коры была обнаружена и на полушариях лягушки, на зрительной доле кролика.

Исследование периодизма полушарий лягушки производилось

при помощи той же системы трубочек, как и на зрительном нерве. Смена полей зрения приводила к изменению конфигураций кривых излучения. Однородное светлое поле зрения давало резко выраженные периоды излучения, т. е. колебания интенсивностей от максимальной до нулевой. Светлое поле зрения с черным рисунком давало значительно более сглаженные периоды излучения, т. е. падения интенсивности излучения до нуля не наблюдалось ни в одной из исследованных точек.

Приведенные до сих пор данные относятся к более ранним работам.

Большая поверхность мозговой коры кролика позволила пойти дальше и изучить распределение интенсивности по площади, т. е. в этом случае периоды являются не двумерными, а трехмерными понятиями. Исследование периодизма

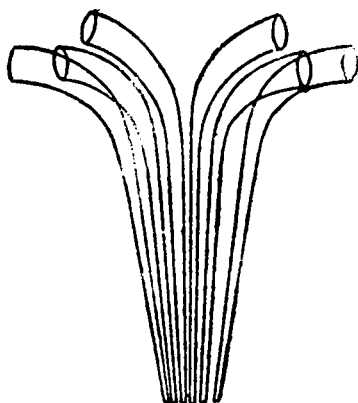


Рис. 25. Схема расположения 6 трубочек, заполненных раствором, способным к вторичному излучению при испытании излучения зрительного нерва или мозговых полушарий.



Рис. 26. Распределение интенсивности излучения — «периоды» зрительного нерва при освещении глаз.

Верхние 5 кривых — равномерно белое поле зрения; три нижние кривые — белое поле зрения с черным рисунком.

производилось в этом случае при помощи системы трубочек, расположенных параллельно в три ряда. Каждый ряд, состоящий из четырех трубочек, отстоял от другого на расстоянии 1—1,5 мм. Таким образом, это приспособление давало возможность исследовать площадь приблизительно в 15—16 мм², расчлениая ее на 12 отдельных точек. Таким образом, был изучен периодизм излучения при однородном светлом поле зрения. Опыты, проведенные на 9 кроликах, расположены в цифровую таблицу, цифры распределены соответственно распределению трубочек.

Мы видим, что интенсивность излучения в каждом ряду колеблется от резко выраженного эффекта до нуля. Один из опытов мы для большей наглядности приведем в виде кривой (рис. 27).

I				II				III			
22	— 6	— 4	28	6	0	23	2	— 6	0	49	9
2	— 10	—	0	8	46	— 2	32	6	— 28	—	8
— 6	6	28	8	0	27	— 4	2	13	25	4	0
IV				V				VI			
40	25	8	— 5	38	28	18	— 12	0	9	36	6
0	13	— 8	45	— 4	22	— 4	4	— 3	5	23	9
22	6	12	32	— 14	8	6	15	— 14	8	6	15
VII				VIII				IX			
— 2	11	2	6	7	2	6	10	— 6	10	—	32
0	38	— 6	16	— 8	13	19	10	6	— 6	20	28
2	16	12	32	41	— 8	4	2	19	28	20	2

Различие в конфигурации периодов между отдельными животными совершенно естественно, поэтому вопрос об изменении характера периодов в связи с изменением раздражения может быть решен только на одном и том же животном. Кроме того, необходимым условием является, конечно, быстрота всех манипуляций,

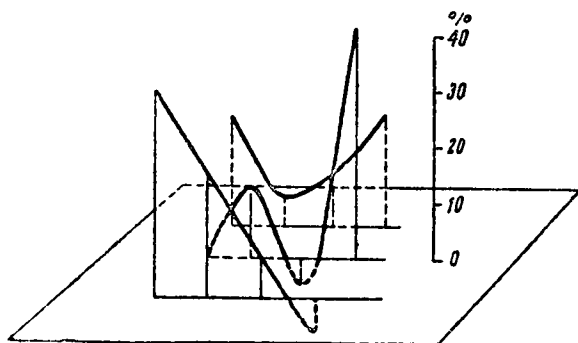


Рис. 27. «Периоды» излучения коры, возникающие при освещении глаз; даны в перспективе. Кривые соединяют 12 точек, расположенных в 3 ряда.

так как, как можно было предполагать и как это показали специальные опыты, более или менее одинаковое состояние возбуждения коры, насколько об этом можно судить по периодам, длится сравнительно короткое время.

Рисунок демонстрирует результаты на четырех различных кроликах, на которых при помощи одного ряда трубочек были сняты при однородном светлом поле зрения с одного и того же участка зрительной доли две кривых, следующих одна за другой прибли-

зительно через 5 минут. В 3 случаях кривые совпадали вполне удовлетворительно, в четвертом они разошлись (рис. 28).

Изучение изменения периодов излучения при изменении качества раздражений проводилось в довольно большом количестве случаев. В качестве примеров мы приведем несколько кривых, снятых при помощи одного ряда трубочек.

1. Все три кривые сняты с одного и того же участка зрительной доли кролика через возможно более короткий промежуток времени одна после другой (рис. 29); а) период, соответствующий светлomu однородному полю зрения; б) период, получающийся при поле зрения с черным квадратом по середине; в) то же самое.

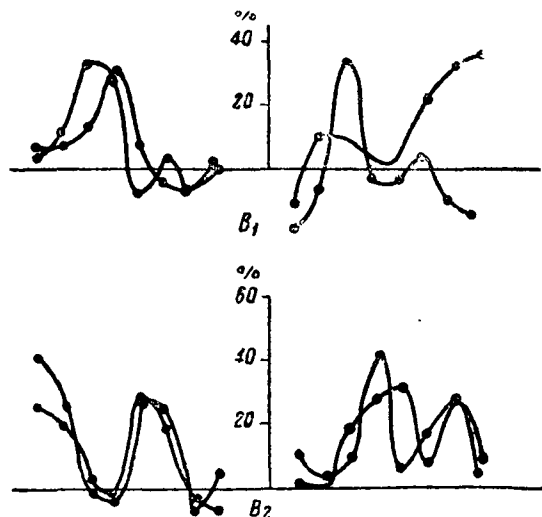


Рис. 28. «Периоды» излучения коры. Кривые соединяют 8 точек, расположенных в 1 ряд.

B_1 и B_2 — четыре пары кривых, снятых одна непосредственно за другой на четырех кроликах. В трех случаях хорошее совпадение; в четвертом (B_1 , направо) кривые различны.

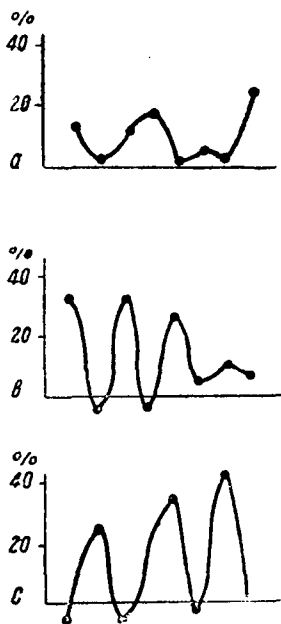


Рис. 29.

а — период, соответствующий однородному белому полю зрения; б и с — периоды, снятые один за другим с одного участка зрительной доли при белом поле зрения с черным квадратом посредине.

2. Два кролика (рис. 30); на каждом во всех трех случаях исследовался один и тот же участок зрительной доли.

Первый кролик: а) период, соответствующий белому однородному полю зрения; б) период, возникающий при белом поле зрения, на котором скользит черная ломаная линия; в) период при белом поле зрения с неподвижной линией.

Второй кролик: а) период, возникающий при белом поле зрения; б) период, возникающий при белом поле зрения с неподвижной линией; в) период, возникающий при белом поле зрения со скользящей линией.

Таким образом, несмотря на то, что подвижный рисунок по сравнению с белым полем зрения не вызывает изменения периодов

излучения, разнообразие их при различных зрительных раздражениях несомненно.

На основании всей совокупности, данных, затрагивающих и спектральный состав, и периодизм излучения, мы можем, как нам кажется, утверждать, что для митогенетического симптома возбуждения специфично многообразие форм проявления. Вопрос о пределах разнообразия проявлений симптома по своему существу не может быть решен экспериментально, но экстраполирование наших данных нам кажется законным. Нам кажется, что приведенный нами здесь материал позволяет с большей степенью вероятности предположить, что разнообразие проявлений

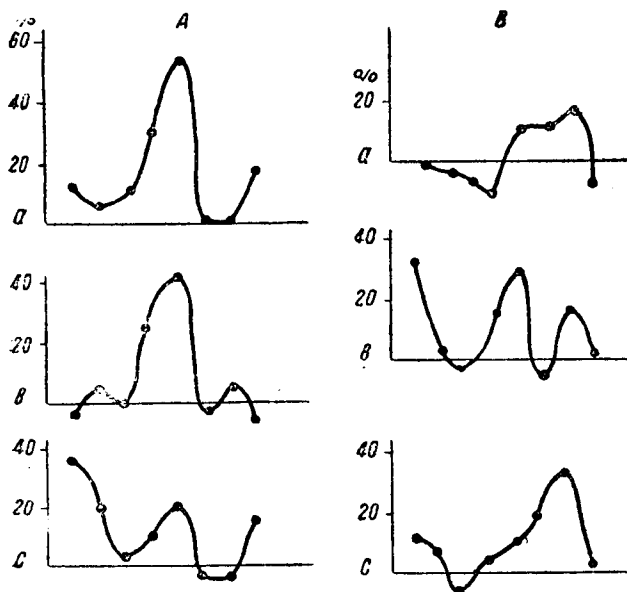


Рис. 30.

А: а — период, возникающий при однородном белом поле зрения; б — черная выгнгообразная линия, скользящая на белом фоне; с — та же линия неподвижная; В — опыт такой же, как опыт А, но период, соответствующий неподвижной черной линии, помещен между двумя периодами, соответствующими белому полю и скользящей линии (а и б).

митогенетическую функцию симптома возбуждения коры, представляющей для нас в этом смысле главный интерес, не уступает разнообразию содержания возбуждения, т. е. в этом смысле митогенетический симптом является адекватным симптомом, пригодным для анализа субстрата возбуждения.

3. Анализ субстрата излучения $resp$, возбуждения

На основании изложенных в предыдущей главе фактов мы считаем, что располагаем симптомом возбуждения, годным для анализа субстрата возбуждения. Каким образом должен производиться

анализ субстрата, вернее, из какой обязательной предпосылки мы должны исходить для этого? Очевидно, что мы должны стать на точку зрения, что субстрат возбуждения и излучения один и тот же. Тогда мы имеем перед собой определенный путь исследования.

Утвердительно ответить на этот вопрос мы можем, имея в виду: 1) всю совокупность данных, показывающих на однозначную связь между многообразием форм проявления митогенетического симптома и многообразием содержания возбуждений, и 2) некоторые экспериментальные данные, приводящие к этому представлению с другой стороны.

Латманнизова (13) обнаружила следующий капитальный факт: скорость распространения вторичного излучения по нерву—одного порядка с гельмгольцевской скоростью распространения возбуждения, она равна 30 ± 3 м/сек. Уже этот один результат делает очень вероятным, что субстрат для цепных процессов, лежащих в основе вторичного излучения, и субстрат, в котором распространяется процесс возбуждения, один и тот же.

Но Латманнизовой (13) удалось дать этому представлению и более однозначное доказательство, она показала, что длительное облучение каким-нибудь митогенетическим источником одного и того же участка нерва вызывает в этом участке своеобразное состояние митогенетического истощения, которое можно обозначить как митогенетический парабиоз. Этот участок теряет способность к проведению вторичного излучения, вызываемого облучением вышележащего свежего участка нерва, но вместе с тем сохраняет способность реагировать на облучение местным вторичным излучением. Значительное удлинение облучения приводит к очень важным явлениям: наряду с митогенетическим парабиозом наступает полная непроходимость нерва и для адекватных возбуждений, например, для возбуждения, вызванного электрическим раздражением. Таким образом, длительное облучение дает парабиоз и для митогенетического, и для адекватного возбуждения, т. е. одни и те же изменения проводящего аппарата имеют одинаковые последствия для того и другого процесса, а это означает, что субстрат излучения и субстрат возбуждения один и тот же.

Таким образом, для построения представления о субстрате возбуждения мы должны будем анализировать субстрат излучения.

Вопрос об анализе субстрата излучения должен быть разобран во всей ширине, т. е. на основе общих представлений о роли неравновесных молекулярных констелляций. Реактивный аппарат представляет с нашей точки зрения совокупность таких констелляций.

Рассмотрим, исходя из этого взгляда, проведение излучения и возбуждения в организованных системах.

Все организованные системы реагируют на митогенетическое облучение. Мы судим об этом как на основании вторичного излучения, так и на основании того, что облучение может привести к

широко распространяющимся реакциям другого характера, например, к повышению проницаемости всей системы, не говоря уже о стимуляции делений.

Как мы уже видели, поглощенный квант является исходным звеном, стартом цепной реакции, захватывающей при известных обстоятельствах всю систему.

Мы знаем также, что необходимой предпосылкой для распространения цепной реакции в средах ничтожного диаметра (как нервные волокна) может быть лишь упорядоченное пространственное распределение молекул, способных воспринимать и передавать дальше полученное возбуждение.

Другими словами, мы можем сказать, что субстрат, реагирующий на облучение, молекулярно упорядочен. Это же самое мы должны на основании всего предыдущего сказать и относительно субстрата возбуждения. Выяснение характера этой упорядоченности и ее изменений, однозначно связанных с «проявлениями нервной деятельности», является задачей дальнейшего анализа, к которому мы и приступаем.

а) Характер субстрата возбуждения мозговой коры

Первое указание на молекулярно упорядоченный характер субстрата излучения коры мы получаем при применении оперативного метода (24). Предпосылки для этих опытов заключались в следующем: если мы рассматриваем излучение коры как проявление цепных процессов, происходящих в субстрате, то всякое даже незначительное нарушение ее поверхности должно привести к какому-то нарушению излучающей способности. Эксперименты были очень просты и заключались в следующем. Обнаженная поверхность полушарий (кролика), предварительно испытанная на излучение при световом раздражении, надрезалась глазным скальпелем приблизительно на границе между зрительной долей и *area parietalis* (глубина надреза достигала максимум 1—1,5 мм, длина—3—4 мм).

Испытание коры на излучение при световом раздражении давало немедленно после этого отрицательный результат, т. е. кора, несмотря на освещение глаз, не излучала. Способность к излучению при зрительном раздражении восстанавливалась приблизительно через 3—5 минут. Временная утрата способности к излучению захватывала, несмотря на очень ограниченное поранение, поверхность приблизительно в 1,5—2 см².

Скорость восстановления излучающей способности видна из следующей таблицы:

Время, протекшее с момента поранения	1 минута	3 минуты	5 минут
Зрительная доля	— 5%	5%	25%
» »	2%	30%	50%

Наряду с утратой способности к излучению при адекватном раздражении наблюдается и потеря способности к проведению вто-

ричного излучения, характерная таким же распространением на большую площадь и быстрым восстановлением.

Само возникновение этого «митогенетического шока»¹, а главное, его сравнительно быстрая обратимость и распространение на большую поверхность являются, как нам кажется, вполне убедительным доказательством того, что причиной шока является не местное нарушение каких-то проводящих путей — гистологических структур мозговой ткани, несомненно, причиненное разрезом, а нарушение субстрата цепных процессов. Мы видели уже, что они немислимы без молекулярной упорядоченности.

Наряду с этим однозначное доказательство существования молекулярной упорядоченности в коре и вместе с тем некоторое углубление этого представления мы видим в деградационном излучении.

Оказывается, что, наряду с излучением, возникающим при различных состояниях возбуждения и при так называемом покое, кора обладает способностью к деградационному излучению, которое легко обнаруживается при охлаждении мозга, находящегося в состоянии «покоя», т. е. при возможном выключении всех внешних раздражителей.

О возникновении деградационного излучения мы узнаем, во-первых, по возрастанию интенсивности излучения при охлаждении, значительно превышающей слабое излучение при «покое», и, во-вторых, по возникновению новых спектральных полос. Длительность деградационного излучения коры, так же как и других объектов, является при продолжающемся охлаждении функцией от температуры. При применении нами охлаждения (3—4° для лягушек и 10—12° для кроликов) излучение длилось приблизительно 5—6 минут; при 6—7° (для лягушек) длительность излучения — 15—20 минут.

Длительность деградационного излучения полушария лягушки при 3—4°

	Опыты		
	1-й	2-й	3-й
	(эффект в процентах)		
Сразу после погружения в охлажденный физиологический раствор	20	58	19
Через 3 минуты	35	18	20
» 6 минут	22	— 1,5	9
» 9 »	7	8	6
» 12 »	5	8	5

Очень важным фактом является изменение спектрального состава деградационного излучения во времени.

Эти две категории фактов устанавливают, как нам кажется, принцип молекулярной упорядоченности субстрата возбуждения, — упорядоченности, имеющей «неравновесный» характер.

¹ Наряду с митогенетическим шоком возникал и кратковременный физиологический шок, выражавшийся в исчезновении тактильного мигательного рефлекса; брачный рефлекс сохранялся.

Изменения спектрального состава по времени

(Опыты не сравнимы между собой, так как лягушки перед ними не выдерживались в строго одинаковых условиях, но интерес заключается в сравнении двух времен внутри каждого опыта, показывающем изменение спектров):

Условные обозначения спектральных полос		Продолжительность охлаждения (6—7°)	
		1-я минута с момента охлаждения (эффект в %)	9—10-я минута с момента охлаждения (эффект в %)
1	3-я	24	26
	4-я	0	23
	5-я	23	12
2	3-я	— 8	27
	4-я	— 6	40
	5-я	16,5	6
3	3-я	14	8
	4-я	15	1,5
	5-я	56	25

Мы можем, однако, пойти дальше и поставить следующий вопрос. Если действительно неравновесные молекулярные конstellляции специфичны для субстрата возбуждения и излучения коры, то вероятным казалось, что при каком-нибудь сильном возбуждении, резко отличающемся от так называемого состояния «покоя», т. е. при каком-то изменении субстрата возбуждения, деградационное излучение коры будет или нарушено, или каким-нибудь образом изменено, например, в своем спектральном составе. Опыт показал, что это действительно так. Одновременное воздействие на кору двух факторов, из которых каждый сам по себе стимулирует излучение — зрительного раздражения и охлаждения, приводит к исчезновению излучения.

Только охлаждение 3 минуты	Охлаждение и освещение 3 минуты	Только освещение 3 минуты
36%	11%	35%
27%	8%	24%
20%	2%	26%

На основании этого результата, о котором мы будем еще говорить позже, мы можем, во всяком случае, сказать, что переход от состояния покоя к световому возбуждению вызывает какие-то изменения неравновесных конstellляций.

Таким образом, мы можем с полной уверенностью говорить о молекулярной упорядоченности субстрата возбуждения коры, представляющей собой хотя бы отчасти совокупность неравновесных молекулярных конstellляций. По существу это представление равнозначно понятию трехмерного «молекулярного континуума» коры. Остановимся на нем несколько подробнее.

Впервые представление о континууме было введено А. Г. Гурвичем. Он ставит вопрос, открывающий путь для дальнейшего анализа: «...существует ли, наряду с дискретными состояниями воз-

буждения отдельных элементов нервной системы, изменчивое, не ограниченное дискретными элементами общее состояние возбуждения, которое можно рассматривать как последний соматический коррелят наших ощущений?

Для ответа на этот вопрос лучше всего подходит анализ зрительных восприятий и именно пороговых восприятий... «Представим себе, что в поле зрения возникают два или три пороговых раздражения, находящихся на таком расстоянии друг от друга, которое позволяет воспринимать их одним неподвижным глазом. Сейчас же возникает новое ощущение, которое мы можем назвать «ощущением взаимоотношения» и которое в простейшем случае, например, в случае двух элементарных раздражений, сводится к восприятию расстояния между ними, а в случае большего числа раздражений к восприятию образа. Мы сможем лучше понять этот творческий акт, если мы возникновение определенной фигуры в поле зрения будем представлять в виде постепенного процесса и этим подчеркнем полный параллелизм между морфогенезом в эмбриональном и визуальном смысле. Необходимо совершенно ясно представлять, что поле зрения всегда заполнено, так как все восприятия (светлого, темного, красочного), т. е. все состояния возбуждения, эквивалентны друг другу в смысле содержания сознания. Само собой разумеется, что если мы говорим об элементарном восприятии светящейся точки на темном фоне, то мы воспринимаем и темный фон, и светящуюся точку, а не только последнюю.

Заменим однородное темное поле пестрым. Если элементы, заполняющие поле, малы, многочисленны и разнородны по форме, то мы не имеем никакого восприятия образа. Мы говорим тогда об «аморфном поле зрения», аналогично аморфному накоплению мезенхимных клеток на том месте, где позднее возникнет оформленный зачаток органов. Здесь, как и там, морфогенез есть постепенный процесс. Чисто условно мы можем это представить следующим образом.

Аморфное поле зрения заполнено пестрой мелкой мозаикой. Внутри определенного участка (например, треугольника) постепенно и без ведома испытуемого лица сглаживаются красочные различия отдельных мозаичных элементов. Тогда совсем постепенно, для одних наблюдателей раньше, для других позднее, но обязательно для всех, возникнет фигура треугольника и поле зрения из аморфного превратится в морфотическое».

«Характерной чертой аморфного поля зрения является не гомогенность, так как оно может быть и пестрым. Гораздо больше к аморфному полю подходит понятие изотропности, которую нужно понимать в том смысле, что в среднем (статистически) содержание поля, взятое в любом направлении из любой точки, воспринимается как одинаковое. Наоборот, каждая анизотропия зрительного поля будет тогда связана с возникновением определенного образа... «Восприятие «треугольника» происходит с одинаковой легкостью и уверенностью, независимо от того, ограничивается ли кусок поля тремя прямыми или зигзагообразными линиями или точками»...

«Совершенно ясно, что в этих случаях одинаковы (или аналогичны) не контуры, ограниченные линиями, зигзагами или точками, а ограниченные участки заполненного зрительного поля»... «Важность ориентировки для восприятия геометрического подобия фигур является тоже доказательством того, что мы воспринимаем не только данную фигуру, но и содержащее окружающего поля. Если мы оцениваем расстояние между двумя точками, или, вернее, воспринимаем участок между ними, то при этом происходит не акт связывания двух отдельных восприятий, а непосредственное восприятие заполненного участка между двумя точками.

Таким образом, наше непосредственное восприятие при каждом зрительном акте, со всеми его количественными и качественными особенностями, есть восприятие к о н т и н у у м а. На это неизменяемое основание накладываются в пестрой последовательности отдельные восприятия, которые, как мы в самых общих чертах можем представить, приводят континуум в самые различные обратимые анизотропные состояния. Например, когда мы говорим о восприятии расстояния между двумя точками, то, строго говоря, это значит, что континуум прерван в двух точках».

Исходя из этого анализа, А. Г. Гурвич приходит к следующему выводу: «То, что мы, пока только в противоположность нейронам, называем континуумом, свойственно возбужденной коре и обладает способностью к неограниченным изменениям состояния. Каждое состояние такого континуума есть коррелят оптического восприятия.

Однако состояние континуума только до известной степени определяется возбуждениями нейронов, так как возбуждение, соответствующее «восприятию целого» или «восприятию образа», нельзя рассматривать как ассоциативную связь возбуждений отдельных нейронов. Все говорит гораздо больше за то, что элементарные возбуждения только вливаются в континуум как в общий сосуд».

Понятие континуума, вернее, убеждение в его необходимости, проникает в нейрофизиологию. Однако классическая и митогенетическая физиология вкладывают в него различное содержание.

Дело в том, что, в то время как мы на основании митогенетического анализа вкладываем в представление о континууме молекулярное содержание, т. е. приходим к представлению о молекулярной упорядоченности коры, или, иначе, к представлению о трехмерном молекулярном континууме, Геррик и особенно Пселлак отождествляют континуум с нейропилем, т. е. не выходят из области гистологических представлений.

Взгляды Геррика выражены следующей фразой (цитата не дословна). Мысль о том, что нейропиле принимает участие в тотализирующей функции, не нова, говорит Геррик, — на это было указано, например, Гурвичем при разработке им представления о том, что в мозгу, наряду с местными анализирующими аппаратами, существует так называемый континуум, функцией которого является синтез.

Я предполагаю, пишет Он, однако, дальше, что исследование такого механизма должно начинаться с изучения структуры нейропилия. Еще более резко это (может быть выражено у Поллака (12)). Он пишет следующее: «Гурвич правильно настаивает на существовании в зрительной системе, наряду с анализирующим аппаратом, другого механизма, который он называет К о н т и н у м, главная функция которого заключается в синтезе. Но не только возможно, но даже вероятно, что этот синтезирующий механизм — структурная основа Gestalt-Psychologie — должен представлять не квази-имматериальную, не нейропильную систему, а просто совокупность диффузно распределенных нейронов, существование которых доказано Рамони и Кахалом. Эти специальные структуры прекрасно удовлетворяют всем постулатам Gestalt-Psychologie. Поиски таких специальных структур зрительной и других долей отнюдь не преждевременны, чтобы дать новым запросам со стороны психологии морфологическое основание».

Эта точка зрения кажется нам очень условной. Поллак, ограничивая себя гистологическими — нейропильными структурами, этим самым выдвигает на первое место значение нейропилия как проводящей системы и оставляет при этом в тени тот основной субстрат, который, заполняя все петли и промежутки между ясными морфологическими элементами, образует, таким образом, непрерывный и специфичный для коры слой, единственным недостатком которого, с точки зрения классической физиологии, может явиться только то, что он морфологически неопределим и поэтому кажется Поллаку квази-имматериальным¹.

б) Субстрат возбуждения и излучения нервов

Необходимость существования молекулярной упорядоченности в организованных системах наиболее наглядно вытекает из самого факта нервного излучения и для нервной системы, оно поэтому и было высказано в самом начале.

Действительно, распространение цепных процессов без всякого декремента на большие расстояния в таких «сосудах», как нервные волокна, т. е. единицах со специально как-будто неблагоприятным отношением поперечника к длине, возможно только при следующем допущении. В проводящих элементах² должны суще-

¹ Наряду с представлениями Геррика и Поллака мы встречаем в классической физиологии другой взгляд, очень яркую формулировку которого дал недавно Бронк: «Мы хотим понять, как функционирует нервная система, — говорит он, — и мы думаем, что, изучая свойства и активность отдельного нейрона, мы поймем это. Характер нервной деятельности обуславливается поведением индивидуальных клеток, и мы думаем, что если мы определим их свойства, то мы поймем работу нервной системы как целого» (D. W. Bronk, «The cellular organization of nervous function», Transact. stud. of the College of physicians of Philadelphia, p. 4, v. 6. 2, 1938).

² Мы употребляем такое несколько неопределенное выражение ввиду того, что, по мнению Эрлангера и Гассера, фибриллы представляют собой не стойкие морфологические единицы, а являются скорее обратимыми образованиями, возникающими в момент раздражения нерва. Этот взгляд, однако, ни в какой мере не затрагивает вводимого здесь представления.

ствовать особенно благоприятные для цепных процессов условия, которые мыслимы только в виде молекулярной упорядоченности, именно в виде молекулярных цепей, так как эта конфигурация наиболее соответствует форме нервных волокон.

Действительно, иначе, т. е. при хаотическом распределении молекул, а тем более при какой-нибудь неблагоприятной, т. е. не связанной с формой волокон, конфигурации молекулярной упорядоченности, цепные процессы должны были бы немедленно затухать.

Однако, кроме этих общих соображений, мы имеем и некоторые доказательства существования молекулярных цепей в нервных волокнах.

Как уже известно на основании работ Латманизовой (13), при длительном, порядка полчаса, облучении участка нерва наступают явления так называемого митогенетического парабриоза, выражающегося в утрате в участке облучения способности к проведению вторичного излучения.

Однако теряется именно только способность к проведению излучения, так как вторичное излучение с места непосредственного облучения может быть обнаружено. Другими словами, получасовое облучение несколько не отражается на самом механизме «сенсibilизированной флюоресценции», лежащей в основе излучения, а нарушает, очевидно, именно молекулярную упорядоченность.

Употребляя вторичное излучение как анализирующий фактор, мы можем пойти несколько дальше и выяснить характер молекулярных цепей.

Мы будем исходить из того, что при обычном ритме адекватных раздражений по нерву пробегает несколько сот отдельных волн излучения в секунду, т. е. за время экспозиции, длящейся несколько минут, мы имеем несколько десятков тысяч отдельных волн. Вместе с тем резкость максимумов и минимумов показывает, что одна точка нерва дает соответственное число вспышек излучения, в то время как соседняя с ней или совсем не дает, или дает подпороговое, т. е. значительно меньшее число. Такое постоянство распределения вспышек излучения равнозначно тому, что в нерве появляются стоячие волны, которые могут возникать только при интерференции встречных волн излучения, следовательно, в каком-то месте, всего вернее в синapse, происходит их отражение.

Эти выводы дают различные возможности для экспериментальной проверки:

1. Если периоды излучения являются результатом отражения волн излучения, то первая волна, распространяющаяся от места раздражения (в данном случае в качестве раздражения применялось облучение нерва, дающее вторичное излучение с таким же периодизмом, как адекватное раздражение), не должна давать периодов, т. е. должна быть сплошной на всем протяжении нерва. Это представление получило экспериментальное подтверждение.

Седалищный нерв нервно-мышечного препарата лягушки, прикрепленный (рис. 31 и 32) на специальном штативе, вводился в полость цилиндра и помещался по его оси. Цилиндр, вращающийся с постоянной скоростью на оси мотора, был

снабжен 6 горизонтальными щелями по 60° , расположенными по винтовой лестнице. В 2 см от нижней щели в горизонтальной плоскости была расположена щель, регулируемая по ширине, через которую на нерв подавалось облучение. Из расчета латентного периода и скорости распространения вторичного излучения можно было выбрать такое положение нижней щели, при котором все верхние щели открывают нерв в любой момент его реакции. Ввиду значительного

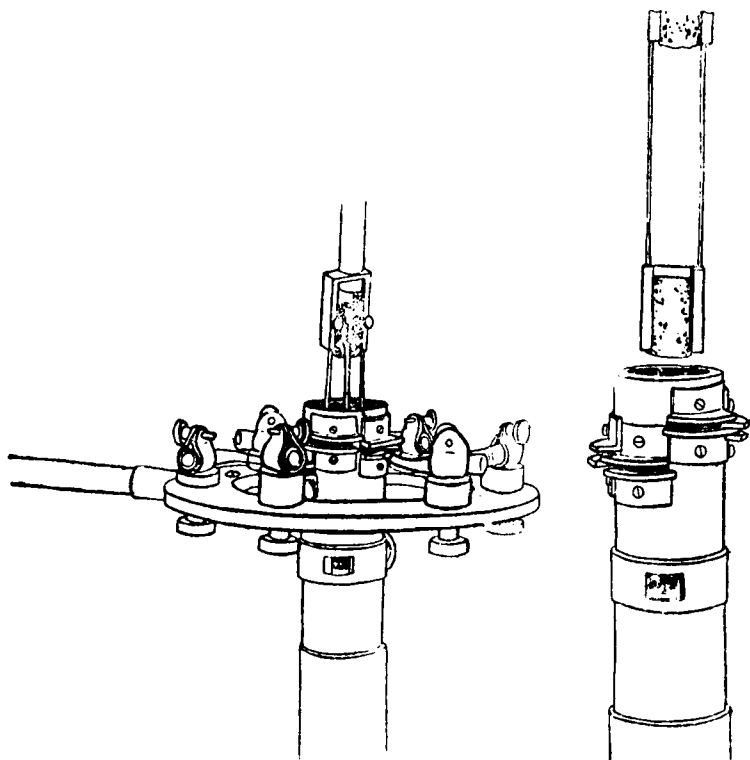


Рис. 31 и 32. Аппарат для выделения любого отрезка волны излучения.

углового отверстия этих щелей за все время их пробега нерв оставался открытым $\frac{1}{50}$ секунды, т. е. промежуток времени, соответствующий прохождению и первичной, и ряду встречных волн. Перемещением нижней подвижной щели можно было, однако, из этого промежутка времени выделить любой отрезок, например 0,001 секунды, протекающий до закрытия системы верхних щелей. При этом на детектор могла попасть, конечно, лишь самая начальная стадия вторичного излучения — бегущая вперед волна, не претерпевшая еще интерференции (13, 22).

2. Представление об отражении волны излучения от синапса можно, как это показал в своей работе Белов (26), подтвердить еще другим путем. Исходная предпосылка заключалась в следующем. Если местом отражения является нервно-мышечный синапс, то временная разница между вспышкой облучения и вспышкой возникающего после этого вторичного излучения должна находиться в прямой зависимости от расстояния данного участка нерва от си-

напса. Действительно, отставание отраженной вспышки облучения обуславливается тремя величинами: 1) времени, нужным для прохождения волны от участка облучения до синапса; 2) длительностью какого-то процесса возбуждения в синапсе и 3) временем прохождения обратной волны от синапса до изучаемого участка нерва. Вторая величина остается неизменной, а первую и третью мы можем произвольно менять, изучая излучение различных участков нерва. Первый участок был выбран почти непосредственно около мышцы, второй — на расстоянии 30 мм. Предварительно было рассчитано, что при правильности всех исходных предположений отраженная волна должна притти на второй участок приблизительно на $\frac{1}{466}$ секунды позже, чем на первый. Полученные результаты вполне подтвердили это предположение.

Не является ли, однако, феномен отражения излучения от синапса артефактом, т. е. не имеем ли мы в отраженной волне просто вторичное излучение, не связанное с состоянием возбуждения?

Мы можем с полной уверенностью ответить на это отрицательно на следующем основании. Между спектром вторичного излучения нерва и спектрами излучения, возникающими при адекватных раздражениях, существует принципиальная разница — все слагаемые, входящие в спектр вторичного излучения, представлены полностью, т. е. имеют все те полосы, которые специфичны для соответственных ферментативных реакций, протекающих *in vitro*; наоборот, слагаемые «адекватных спектров» представлены не полностью, каждый спектр характеризуется отсутствием некоторых вполне определенных полос. Совершенно ясно, что это резкое различие не могло бы быть в том случае, если бы отраженные волны излучения при адекватных раздражениях были волнами вторичного излучения.

Мы исходим, таким образом, из интерференции встречных волн излучения, как из прочно доказанного факта, но это явление становится понятным только при допущении молекулярных цепей, т. е. является тем самым лишним доказательством молекулярной упорядоченности.

Действительно, при анализе возникновения интерференции мы непрерывно оперируем совершенно необходимым понятием молекулярных цепей. Если в каком-нибудь пункте две встречные волны интерферируют друг с другом, то это значит, что дальнейшее распространение этих волн в силу каких-то причин невозможно. Каковы эти причины? На основании работ Латманисовой (13) известно, что нарушение молекулярной упорядоченности нерва может быть вызвано облучением, причем спектральный состав облучения при этом совершенно неважен, т. е. облучение даже какой-нибудь одной полосой вызывает нарушение цепей различных химических составов. Отсюда следует, что и собственное излучение нерва, и вторичное излучение вызывают некоторое нарушение окружающих цепей, непосредственно не затронутых излучением. Представим теперь себе, что одна из волн, распространяясь от места раздражения нерва по адекватным для нее цепям и нарушая окружающие ее неадекватные цепи, дойдет до пункта, в котором она встретит предыдущую, отраженную от синапса, волну, распространяющуюся, как это очень вероятно, вследствие статистического распределения по другим цепям и нарушающую вследствие этого, наряду с другими, и цепи, адекватные первой волне. Дальнейшее распространение обеих волн, вследствие нарушения нужных им цепей, будет невозможным.

Наиболее однозначное доказательство наличия молекулярной упорядоченности в нервных волокнах дают, как нам кажется, следующие опыты.

Более точный спектральный анализ, позволивший установить границы спектральных линий с точностью до 5 \AA , показал, что положение гликолитической полосы в так называемом спокойном излучении нерва сдвинуто в длинноволновую сторону по сравнению с положением этой линии в растворе.

Как вытекает из более подробного рассмотрения этого феномена (глава первая), подобные сдвиги линий могут быть обусловлены только взаимной деформацией молекул, вызванной их пространственной близостью друг к другу (примером такого пространственно близкого упорядоченного расположения могут являться адсорбированные на различных поверхностях мономолекулярные слои).

Таким образом, какое-то не хаотическое, а закономерное пространственное распределение молекул, обуславливающее их большую близость, чем в растворах, должно быть типично и для субстрата возбуждения нервов.

Еще большую убедительность этому выводу дает вторая модификация опытов с наложением слабого электрического поля (порядка 100 V/cm), вызывающего довольно значительный сдвиг линии нервного излучения (порядка $10\text{--}15 \text{ \AA}$) в длинноволновую сторону. Эффект от наложения такого слабого поля может быть обусловлен только переориентировкой ориентированных уже каким-то образом друг относительно друга молекул.

Таким образом, наличие в нервных волокнах молекулярной упорядоченности в виде молекулярных цепей мы можем считать достаточно обоснованным, но мы пойдем несколько дальше и разберем, применимо ли и в данном случае, так же как к мозговой коре, понятие неравновесности молекулярных структур.

Мы увидим, что на основании некоторых экспериментальных данных представление о неравновесном состоянии становится во всяком случае очень вероятным.

Как уже известно, двигательные и смешанные нервы способны реагировать излучением на раздражения или на облучение только в том случае, если они соединены с мышцей. Разберем как более простой случай, реакцию нервов на облучение. Мы считаем твердо установленным фактом, что проведение вторичного излучения в нерве возможно лишь при молекулярной упорядоченности субстрата. Следовательно, выключение воздействия со стороны мышцы приводит к нарушению молекулярной упорядоченности нерва, или, наоборот, мышца поддерживает упорядоченное состояние субстрата.

Этим, в сущности говоря, обязательным выводом мы первый раз переводим представление о воздействии мышцы на молекулярный язык, и вместе с тем это одно уже делает, как нам кажется, очень вероятным то, что молекулярные цепи в нерве находятся в неравновесном состоянии.

Более однозначное доказательство неравновесного состояния цепей мы видим в следующем. Выяснилось, что в момент исчезновения реакции мышцы при ее замораживании нерв дает интенсивную вспышку излучения. Короткая экспозиция, порядка 30 секунд, необходимая для обнаружения этой вспышки, захватывала как раз переходный момент, т. е. начиналась в то время, когда мышца еще обладала способностью к слабому сокращению при фарадизации нерва, и кончилась после отказа мышцы от сокращения.

Нам кажется, что эту вспышку излучения мы можем рассматривать как излучение деградационного характера, возникающее при каком-то радикальном нарушении неравновесной молекулярной упорядоченности нерва.

Эти результаты стоят как будто в противоречии с тем, что охлаждение нерва не дает деградационного излучения. Нам кажется, однако, что более внимательное рассмотрение этого вопроса дает возможность для вполне правдоподобного объяснения этого кажущегося противоречия. На этом вопросе мы остановимся в следующей главе.

с) Деградационный характер излучения нервной системы

Мы рассматривали до сих пор субстрат излучения и возбуждения нервной системы как «статическую» систему, т. е. не затрагивали вопроса о тех непрерывных изменениях и перестройках субстрата, которые должны лежать в основе излучения. Другими словами, происхождение нервного излучения остается пока для нас совершенно неясным.

Очевидно, однако, что этот вопрос имеет капитальное значение, так как именно таким путем мы можем получить некоторое представление о тех изменениях субстрата, которые являются выражением акта возбуждения.

Вместе с тем нужно с самого начала сказать, что разбор этого вопроса должен иметь несколько другой, чем обычно, характер, так как непосредственными экспериментальными доказательствами правильности того или другого представления мы в данном случае не располагаем. Речь может идти об обосновании этого вопроса с более общих точек зрения и о построении на основании этого вероятных представлений, хорошо гармонирующих с теми основными характеристиками нервной деятельности, из которых мы исходили с самого начала.

Общим и для коры, и для нервов и, судя по всему, специфичным только для нервной системы является прерывистость излучения по времени, сохраняющаяся и при наложении длительных раздражений.

В этом отношении мы имеем полную аналогию с токами действия, особенно если принять ритм вспышек излучения порядка 100—200 в секунду. Постараемся разобрать и оценить этот факт.

Очевидно, что энергетической основой нервного излучения являются те же энергетические процессы, как и в других организованных системах, но в данном случае излучение охарактеризовано прерывистостью. Совершенно искусственным было бы представление, что химические процессы возникают и затухают сотни раз в секунду. Гораздо естественнее предположить периодичность в утилизации этой энергии внутри системы. Но так как общий энергетический запас системы должен оставаться приблизительно на одном уровне, то и отдача энергии, например, в форме излучения, должна происходить в таком случае периодически.

Мы видим, таким образом, что, исходя из самых общих соображений, мы приходим к схеме деградационного излучения, облекающей все сказанное в гораздо более конкретную форму и хорошо гармонирующей с высказанными выше представлениями, имеющими в большинстве случаев прочное экспериментальное доказательство.

Действительно, деградационное излучение возникает при нарушении неравновесности молекулярных констелляций, субстрат нервного возбуждения тоже молекулярно упорядочен и, судя по всему, неравновесен.

Таким образом, мы можем с большой степенью вероятности предположить, что для субстрата нервной системы характерна смена возникновения и нарушения неравновесной молекулярной архитектуры, причем нарушение сопровождается деградационным излучением. Другими словами, субстрат нервного возбуждения и излучения представляет непрерывно осциллирующую систему, одним из флангов которой является упорядоченная молекулярная система неравновесного характера, находящаяся, следовательно, на высоком потенциале, другим—совокупность «обломков» нарушенной архитектуры, часть которых во всяком случае является флюоресцентами.

«Физиологическое» излучение нервной системы мы рассматриваем, таким образом, как «деградационное».

«Физиологичность» представления о непрерывной деградации и восстановлении молекулярной архитектуры хорошо гармонирует, как нам кажется, и со способностью коры давать «прогрессирующее» экспериментальное деградационное излучение и с отсутствием этого явления в нервах.

Действительно, насколько естественно предположение о том, что в такой сложной организованной системе, как кора, так же как и в большинстве других, неравновесные молекулярные констелляции различны, т. е. находятся на различных уровнях энергии, настолько же мало вероятным это кажется для нервов, где нет оснований предполагать различия физиологических состояний, а следовательно, и констелляций в микроскопических пределах, и где мы, судя по всему, имеем дело с наиболее простой формой молекулярной упорядоченности, символически изображаемой цепями.

Охлаждение ткани коры должно, с этой точки зрения, приводить к постепенному нарушению констелляций, т. е. к растянутому во времени излучению, что мы и наблюдаем в действительности. Наоборот, при внезапном охлаждении нерва речь может идти лишь о возникновении однократной или нескольких немногих вспышек излучения при более или менее одновременной деградациии всех или подавляющего большинства неравновесных констелляций. Возможность регистрации нескольких вспышек нашими детекторами является, однако, очень мало вероятной.

4. Общие представления о характере перестроек молекулярного субстрата как доступном пока для нас выражении возбуждений

а) Состояния континуума в тихое и при возбуждении

Представление о физиологическом излучении нервной системы как о деградиационном излучении, плодотворно потому, что оно подводит нас непосредственно к основному вопросу о характере перестроек субстрата возбуждения, т. е. о выражении акта возбуждения на языке молекулярных констелляций.

Совершенно естественно, однако, что именно в данном случае мы должны будем соблюдать максимальную осторожность, т. е., не выходя из рамок общих соображений, ограничиться построением вероятных с нашей точки зрения представлений.

Мы рассматриваем субстрат возбуждения как непрерывно нарушающуюся и восстанавливающуюся, т. е. непрерывно осциллирующую молекулярную систему; очевидно, это представление должно быть основной нашей характеристики состояния возбуждения. Но мы можем его несколько видоизменить и в самой общей форме дать следующую формулировку.

Возникновение каждого импульса раздражения приводит молекулярный субстрат возбуждения в кратковременное состояние упорядоченности неравновесного характера; это и есть предварительное, но по всей вероятности не исчерпывающее выражение акта возбуждения. Упорядоченность сменяется нарушением, причем вопрос о длительности упорядоченной стадии, т. е. о том, соответствует ли она всей продолжительности импульса или моменту его возникновения, остается для нас, конечно, открытым, но он и не имеет принципиального значения.

Наоборот, капитальное значение имеет другая сторона вопроса — возможность неограниченного разнообразия ориентаций молекулярных констелляций, т. е. состояний упорядоченности. Именно это свойство рассматривалось нами с самого начала как обязательное условие «адекватности» субстрата возбуждения.

Другими словами, мы считаем, что качественно различные импульсы приводят к различным пространственным перестройкам субстрата возбужде-

ния, выражающим различные состояния возбуждений.

Достаточно солидное обоснование этому представлению дает, как уже известно, вся совокупность спектральных данных, показывающая разнообразие спектров в связи с разнообразием раздражений.

Вполне же однозначное доказательство дают, как нам кажется, данные относительно сдвигов отдельных спектральных линий излучения нерва при различных раздражениях, проявляющиеся особенно резко при наложении электрического поля.

Действительно, если, как было показано в первой главе, сдвиг линии в излучении нерва в длинноволновую сторону по сравнению с положением той же линии в растворе можно рассматривать как доказательство более тесной пространственной близости молекул и вследствие этого их взаимной деформации, то различия в сдвигах при различных раздражениях могут быть только следствием изменений пространственного расположения констелляций при различных возбуждениях.

Только таким же образом можно толковать и опыты с наложением слабого (порядка 100 В/см) электрического поля. Различия в сдвигах линии при различных раздражениях, наблюдаемые в поле, могут быть только следствием переориентировки ориентированных уже различным образом молекул.

В дополнение к сказанному мы хотим подчеркнуть еще следующее: на основании некоторых данных и соображений нам кажется необходимым разделить «физиологических» раздражений от искусственных, хотя и адекватных раздражителей¹. Сформулированное нами в самой общей форме представление об изменениях молекулярного субстрата как выражений состояния возбуждения соответствует с нашей точки зрения первой группе раздражений. Отвечает ли оно также и искусственным, несомненно, более грубым и воздействующим непосредственно на самую нервную ткань факторам, остается для нас открытым, но представляется вместе с тем мало вероятным.

С этой точки зрения мы полностью присоединяемся к взглядам Вейсса, считающего, что введенный им принцип «резонантного» возбуждения соответствует только физиологическим раздражениям.

Рассмотрим теперь в свете этих представлений некоторые экспериментальные данные, касающиеся нервов и коры.

Остановимся на вопросе о модуляции нервов и попытаемся найти между нашим представлением о состоянии возбуждений и этим явлением органическую связь, т. е. путем синтеза обоих

¹ Физиологическими раздражениями мы можем в самой общей форме назвать как возникновение какого-то начального состояния возбуждения в центральной нервной системе, распространяющееся затем на большую область, так и применение адекватного для данного органа чувств фактора.

понятий сформулировать более полную и более специфическую для нервов характеристику состояний возбуждения.

Предположим, что в данный момент нерв находится в состоянии «покоя», которое мы называем состоянием тонического возбуждения.

Из опытов с пересадкой нерва из одной мышцы в другую вытекает, что характер спектра в этом случае зависит от воздействия со стороны мышцы. Вместе с тем, когда нерв приходит в состояние возбуждений, вызывающих реакцию со стороны (мышц, т. е., когда на тоническое возбуждение накладывается какое-нибудь адекватное, характер спектра изменяется и изменения его стоят в какой-то функциональной зависимости от качества возбуждений.

Сопоставляя первое и второе, мы можем сказать, что любой импульс адекватного раздражения находит молекулярный субстрат нерва не в гомогенном дисперсном состоянии, а в виде молекулярного аппарата, охарактеризованного определенной неравновесной архитектурой, т. е. модуляцию мы определяем как непрерывную организацию и поддержание определенной ориентации молекулярных констелляций.

Другими словами, выражение акта адекватного возбуждения мы должны, судя по всему, рассматривать не как возникновение состояний упорядоченности, а как перестройку, может быть очень радикальную, уже существующей молекулярной архитектуры.

Развивая или, вернее, видоизменяя эту формулировку, мы приходим к следующему.

Возникшую в данный момент неравновесную конфигурацию молекулярного субстрата мы можем рассматривать как результат воздействия двух очень неравноценных факторов: одного — физиологического импульса раздражения и второго — встречного модулирующего фактора. При этом, однако, вполне возможно противодействие обоих факторов, т. е. возможен такой случай, когда для данных импульсов раздражения противодействие модулирующего фактора будет настолько велико, что равнодействующая станет «равной нулю» т. е. организация констелляций, согласно специфическим директивам импульсов раздражения, будет невозможна.

С нашей точки зрения, такое положение вещей соответствовало бы отсутствию распространения возбуждения по нерву.

Это представление мы считаем одним из возможных выражений принципа резонантности Вейсса.

Из принципа противодействия или принципа «борьбы» двух зависящих друг от друга факторов вытекает, как нам кажется, то, что процесс распространения возбуждения по нерву нельзя рассматривать как монотонный, т. е. однотипный процесс, наоборот, на протяжении нерва состояния возбуждения могут быть качественно различны. Косвенное подтверждение этого представления мы ви-

дим в том, что и конфигурация периодов излучения и характер спектров меняются по протяжению нерва.

Объединяя все сказанное, мы можем, таким образом, дать следующую формулировку. Нерв не является с нашей точки зрения пассивным проводником импульсов возбуждения, а, если можно так выразиться, местом встречи двух противодействующих создающих по своей природе факторов; результирующее состояние, возникающее в самом нерве, мы называем возбуждением.

Дальнейшее развитие наших представлений о возбуждении мозговой коры заключается в попытке охарактеризовать в самых общих чертах специфичность состояний континуума при различных возбуждениях.

Мы выдвигаем следующее, по нашему мнению, вероятное предположение.

Континуум, в зависимости от качества изученных нами возбуждений, может быть в двух принципиально различных состояниях.

1. При смене разнообразных возбуждений внутреннего происхождения, соответствующих «состоянию покоя», и при возбуждениях, связанных с болевыми раздражениями, континуум представляет совокупность неравновесных молекулярных констелляций. Разница между состоянием при болевом раздражении и при состоянии «покоя» выражается в качественном разнообразии констелляций и, судя по большей интенсивности излучения, в возникновении, а следовательно, и в нарушении в каждый данный момент большего количества констелляций в первом случае.

Введем для такого характера континуума термин «потенциальный континуум».

2. При световом и звуковом возбуждении коры, а может быть, и при других наряду с этим происходит какого-то рода объединение или «связывание» констелляций, т. е. возникает нечто вроде гигантской неравновесной констелляции или, схематически говоря, трехмерной неравновесной молекулярной решетки, все части которой находятся приблизительно на одном энергетическом уровне.

Континуум такого характера назовем «актуальным континуумом».

Для обоснования этого представления мы обратимся к феномену «прогрессирующего деградиационного излучения», возникающему при охлаждении. Оказывается, что деградиационное излучение

этого рода может быть обнаружено не при всех состояниях возбуждений.

Этот факт является отправной точкой для анализа состояния континуума при различных раздражениях.

Необходимо отметить, что опыты производились параллельно на нормальных кроликах и на кроликах, находящихся в состоянии экспериментальной каталепсии, вызываемой по методу, разработанному Брайнесом. Сопоставление этих двух групп данных и привело нас к высказанному выше представлению.

б) Анализ так называемого спокойного состояния коры

В этом состоянии, как мы знаем, «прогрессирующее деградационное излучение» может быть обнаружено. Характерным для него являются две следующие черты: а) длительность излучения, достигающая 10—15 минут при охлаждении до 6—8°, и б) изменение спектрального состава во времени.

Из этого вытекает, что при этом состоянии коры в ней существуют различные констелляции. Другими словами, наш первый тезис, говорящий, что при «покое» континуум представляет совокупность отдельных молекулярных констелляций, находит подтверждение.

Таким образом, более детальная картина излучения «покоя», т. е. смены разнообразных внутренних возбуждений А, В, С и т. д., должна как будто представлять следующее. Раздражение А с каким-то определенным для него ритмом и длительностью импульсов формирует специфичные неравновесные констелляции. Одновременно раздражение В со специфической для него характеристикой организует другие неравновесные констелляции и т. д. Другими словами, при данном состоянии коры в каждый данный момент отдельные констелляции находятся в различных состояниях неравновесности. Последовательность их спонтанных нарушений, возникающих в момент прекращения отдельных импульсов А, В, обусловлена, следовательно, только характером возбуждений. Результатом этих частичных нарушений и является «излучение покоя».

Легко себе представить, что охлаждение коры должно вызвать повышение интенсивности излучения. Действительно, связанное с охлаждением уменьшение притока энергии должно приводить к нарушению и те констелляции, которые при нормальном метаболизме поддерживались бы импульсами. Другими словами, при охлаждении количество нарушений констелляций в каждый данный момент, а следовательно, и интенсивность излучения должны быть больше, чем в состоянии «покоя».

в) Возбуждение при болевом раздражении

При болевом раздражении кора как нормальных, так и каталептических кроликов излучает с большей интенсивностью, чем при состоянии «покоя».

С нашей точки зрения это значит, что при этом состоянии в единицу времени происходят нарушения, а следовательно, и возникновение большего количества констелляций, чем при «покое».

Охлаждение коры одновременно с болевым раздражением дает те же результаты, что и охлаждение в состоянии «покоя», т. е. излучение продолжается в течение некоторого времени, порядка 10 минут, и затем исчезает, несмотря на продолжающееся раздражение. Очевидно, и в этом случае вполне применимо представление, которым мы пользовались при анализе состояния покоя. Постепенное уменьшение притока энергии вызывает последовательное нарушение отдельных констелляций, причем в первую очередь нарушаются констелляции, находящиеся на более высоких энергетических уровнях, т. е. нуждающиеся в наибольшем притоке энергии, потом констелляции с несколько более низкими энергетическими уровнями и т. д.

Таким образом, нам кажется очень вероятным, что обоим состояниям — и покоя, и болевого возбуждения — при всем их различии свойственна одна общая черта: континуум при этих состояниях представляет совокупность отдельных молекулярных констелляций, находящихся, по видимому, на различных энергетических уровнях. Резкая разница заключается в количестве возникающих в каждый данный момент констелляций и в их качественном разнообразии.

д) Зрительное и звуковое возбуждение

Зрительные и звуковые возбуждения коры вызывают излучение, по интенсивности близкое к излучению, возникающему при болевом раздражении.

В данном случае мы так же, как и при рассмотрении любых других возбуждений, исходим из представления о возникновении неравновесных констелляций и их спонтанном нарушении, однако мы считаем, что для характеристики континуума при этих возбуждениях это представление недостаточно.

К этому мнению нас приводит сопоставление различных данных.

Во-первых, способность коры к излучению при зрительных и звуковых возбуждениях (и из изученных нами возбуждений, судя по всему, только при них) однозначно связана со способностью к проведению вторичного излучения. Мы судим об этом по следующим результатам: кора нормальных кроликов излучает при возбуждениях обоих органов чувств и обладает способностью к проведению вторичного излучения, кора кроликов, находящихся в состоянии экспериментальной каталепсии, не излучает при зрительных и звуковых возбуждениях и не проводит вторичного излучения.

Во-вторых, охлаждение коры одновременно с зрительным возбуждением приводит к исчезновению излучения.

Наиболее вероятным нам кажется, как уже говорилось выше, следующее представление.

Зрительные и звуковые возбуждения коры приводят весь континуум как целое в специфическое для данного возбуждения неравновесное состояние. Другими словами, в этих случаях континуум схематически можно рассматривать как одну гигантскую неравновесную констелляцию или неравновесную трехмерную решетку из констелляций.

Действительно, в это представление как будто хорошо укладываются обе группы фактов.

Мы знаем, что кора каталептических кроликов теряет способность к проведению вторичного излучения и вместе с тем сохраняет способность к деградационному излучению (последнее обнаруживается и при покое, и при болевом возбуждении). Эти оба факта дают, как нам кажется, возможность для однозначного толкования: в коре кролика во время каталептического состояния находится какое-то вещество X, блокирующее, очевидно, в целом ряде мест молекулярный континуум, т. е. обрывающее в этих участках цепные процессы (отсутствие вторичного излучения). Незатронутые участки сохраняют неравновесность, т. е. могут давать деградационное излучение.

Но такие обособленные участки неравновесного континуума не являются адекватным субстратом для возникновения зрительных или звуковых возбуждений, во всяком случае полноценных состояний этих возбуждений. Следовательно, наиболее вероятным выводом является тот, что возникновение светового и звукового возбуждения выражается актом связывания констелляций континуума в одно неравновесное целое. Вопрос о степени распространения процесса связывания, т. е. о том, ограничивается ли оно зрительной или слуховой долей коры или распространяется на весь континуум, остается, конечно, открытым.

Высказанные нами здесь представления носят пока чисто формальный характер, т. е. в понятие «связывания» или «объединения» констелляций мы не вкладываем более конкретного содержания. Это казалось бы нам преждевременным. Но даже в такой форме высказанные взгляды имеют, как нам кажется, некоторое значение. Мы рассматривали возбуждение нервов как состояние, возникающее в результате взаимодействия двух независимых соиздающих факторов — импульсов раздражений и модулирующего фактора.

Этот взгляд является развитием, или, вернее, распространением представления А. Г. Гурвича (1, 28) о возбуждении коры как о состоянии, возникающем в результате взаимодействия континуума с элементарными актами возбуждений отдельных нейронов.

«...Если мы будем исходить из однозначности связи между соматическими и психическими процессами и примем, что каждому психическому акту соответствует определенное состояние или содержание континуума, то мы должны совершенно ясно представлять, что каждое данное новое состояние является только модификацией непосредственно предшествующего и что вместе

с тем смена состояний при нормальных условиях может быть бесконечно разнообразна».

«...Несомненно, что каждое данное состояние континуума непрерывно меняется под влиянием возбуждений соответствующих нейронов, но неправильно думать, что возбуждения нейронов каждый раз создают его заново. Элементарные возбуждения взаимодействуют с континуумом, но не исчерпывают его содержания».

Нас обязывает принять это тот факт, что все богатство наших зрительных образов, наряду с абсолютно обратимыми, однозначно связанными с содержанием зрительных полей впечатлениями, содержит и необратимые слагаемые, не только не являющиеся однозначной функцией от внешних (полей зрения, но и не совпадающие с ними по содержанию».

Примыкание, обучение, протопение, память относятся к ним. Геометрически-оптические обманы зрения являются доказательством того, что и содержание субъективного поля не всегда совпадает с объективным».

«...Из простого рассуждения вытекает, что гистерезис, свойственный нашим зрительным восприятиям, не связан с теми инстанциями зрительного аппарата, которые обуславливают возникновение элементарных ощущений. Действительно, возьмем простейший случай гистерезиса — узнавание зрительного образа при его вторичном появлении; совершенно ясно, что это происходит и тогда, когда в обоих случаях картина захватывает различные элементы зрительного эпителия (например, два подобных треугольника различной величины).

Гистерезис может быть обусловлен в этом случае, как и в бесчисленном количестве других, только той инстанцией, которая является автономной относительно аппаратов, связанных с элементарными возбуждениями. Континуум является нейтральным, ничего не предвещающим обозначением этой инстанции. Введение этого понятия позволяет рассматривать «элементарные аппараты» как свободные от гистерезиса, что, ввиду быстрой и однозначной реакции органа зрения на элементарные возбуждения, является совершенно необходимым».

Основное в характеристике континуума заключается в том, что его состояние или его содержание не является однозначной функцией от внешнего поля. Ему свойственны определенные собственные закономерности, касающиеся его геометрии, и в этом мы видим полное принципиальное совпадение с морфогенным полем. Наиболее яркими и поражающими проявлениями этой собственной закономерности являются, как мы уже говорили, обязательные геометрически-оптические обманы зрения».

Не вдаваясь в очень богатую литературу в этой области, мы можем, как нам кажется, дать следующее вполне объективное выражение этому явлению».

Существуют геометрические конфигурации, не адекватные для органа зрения; в таких случаях они заменяются другими (искаженными).

Активный, автономный характер зрительного аппарата (континуума) проявляется с нашей точки зрения в этом пункте особенно ясно.

Анализируя другую сторону зрительных восприятий — быстроту и однозначность реакций элементарных аппаратов на смену зрительных образов, Гурвич приходит к представлению, что «нервные клетки реагируют однозначно на влияния извне определенными пространственными перестройками (перемещениями) материальных частиц субстрата...»

Митогенетический анализ перевел это представление на более конкретный молекулярный язык, примененный, как мы знаем, и к понятию континуума.

«..Если мы выставим на первый план пространственную слагаемую процессов, происходящих в нейронах, — говорит Гурвич, — то первостепенное значение приобретают сразу две основных черты морфологии кортикальных центров, которые с обычной точки зрения оставались непонятными и не возбуждали к себе достаточного интереса.

Это — изучаемая за последнее время, но совсем с других точек зрения цитоархитектоника коры и замечательно типичные и своеобразные формы нервных клеток, различные в различных участках коры.

Дело совершенно меняется, если мы будем исходить из представления о взаимодействии нейронов и поля; распределение элементов в пространстве приобретает тогда первостепенное значение.

Особенно импозантны с этой точки зрения топографические отношения в мозжечке, — органе, от которого в очень значительной степени зависит наше поведение в пространстве и который, единственный в центральной нервной системе, обладает трехмерно упорядоченной архитектоникой».

Действительно, представим себе молекулярный континуум мозжечка, который мы рассматриваем как одно архитектурное целое, целый ряд входящих в него путей (гистологических элементов), обладающих, во-первых, каждый внутренней молекулярной архитектурой и, во-вторых, характерным вполне закономерным пространственным распределением (гистологическая архитектура).

Легко представить, что организация молекулярной архитектуры в каждом из путей (элементов), происходящая и под воздействием континуума, и под воздействием периферии, будет зависеть от положения путей, т. е. от пространственного распределения элементов относительно данной архитектуры континуума.

«Другими словами... — говорит Гурвич, — ...если мы в качестве коррелята возбуждений нервных клеток примем процессы векторального характера, то и высокая морфологическая специфичность нервных клеток и смысл цитоархитектоники коры становятся несколько более понятными».

1. Gurwitsch A., Die histologischen Grundlagen der Biologie, Jena, Gustav Fischer, S. 192, 286, 280, 1930.—2. Pollak S., The main afferent fiber systems of the cerebral cortex in primates. University of California Press, p. 217, 197, 1932.—3. Лешлей К. С., Мозг и интеллект, стр. 184, 1933.—4. Анохин П., Проблема центра и периферии, стр. 22, 1935.—5. Bethe A., Plaszitätär und Zentrenlehre, Hdb. norm. u. pathol. Physiologie, S. 1179, 1931.—6. Beutnet R., Physical chemistry of living tissues and life processes, Baltimore, p. 245, 1933.—7. Erlanger a. Gasser, Electrical signs of nervous activity, p. 130, 132, 1937.—8. Эдриан Э. Д., Основы ощущений, стр. 75, 20, 1931.—9. Winterstein H., Elektrische Reizung und physiologische Erregung, Naturwiss., S. 247, 250, 1931.—10. Berger H., Das Elektroencephalogramm des Menschen und seine Deutung, Naturwiss., S. 193, 1937; Archiv f. Psychiatrie, 1933, S. 572.—11. Kornmüller, Die bioelektrischen Erscheinungen architectonischer Felder der Grosshirnrinde, Biological reviews, Cambridge University Press, 1935.—12. Lapique L., Un nouveau pas vers la théorie de l'excitation électrique, C. r. Soc. biol., p. 621, 1927.—13. Гурвич А. и Л., Митогенетический анализ нервного возбуждения, ВИЭМ, 1935.—14. Weiss P., Selectivity controlling the central peripheral relations in the nervous system, Biological reviews, vol. II, p. 506, 1936.—15. Ляпик Л., Эволюция современных учений о нервной системе, Физиол. журн. СССР; Успехи соврем. биол. (спец. выпуск к Междун. конгр. физиолог.), 1935.—16. Marinesco G., Radiations mitogénétique de l'écorce cérébrale, C. r. Soc. biol., t. 118, p. 1663, 1935.—17. Брайнес С. Н., Митогенетическое излучение центральной нервной системы кролика, Бюлл. эксп. биол. и мед., т. 2 и 1, 1936.—18. Гурвич А., Митогенетическое возбуждение центральной нервной системы, Архив биол. наук, т. 35, вып. 1, 1934.—19. Календаров Г. С., Спектральное разложение митогенетического излучения возбужденного нерва, Архив биол. наук, т. 34, вып. 1, 1933.—20. Гурвич Л., Митогенетический спектр при возбуждении проприоцептивных волокон нерва, Архив биол. наук, т. 35, вып. 1, 1934.—21. Цоглина И., Митогенетические физиологические спектры двигательных волокон, там же.—22. Гурвич А., Анализ распространения митогенетического излучения в нервной системе при адекватном и неадекватном возбуждении, Архив биол. наук, т. 35, вып. 2, 1934.—23. Gurwitsch A., L'excitation mitogénétique du système neveux pendant l'éclairage monochromatique de l'oeil. Annales physiol., p. 1664, v. 10, 1934.—24. Gurwitsch A., Les phénomènes mitogénétique de l'écorce cérébrale, Annales physiol., v. 24, p. 182, 1938.—25. Herrick C. J., The amphibian forebrain, 10, Journ. compar. neurol., v. 59, p. 256, 1934.—26. Белов Г. Н., Стоячие волны митогенетического излучения в нервном стволе, Архив биол. наук, т. 47, вып. 3.—27. Анохин П. К., Теория "резонанса" в нервной деятельности и ее современная критика, Архив биол. наук, т. 45, вып. 2, 1937.—28. Gurwitsch A. G., Der Begriff der Aquipotentialität in seiner Anwendung auf physiologische Probleme, Roux Archive für Entwicklungsmechanik der Organismen, Bd. 116, 1929.

ГЛАВА ДЕВЯТАЯ

МИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ БИОЛОГИИ РАКОВОЙ КЛЕТКИ

А. ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМЫ

Еще на ранних стадиях изучения митогенетического излучения было ясно, что проблема рака должна стать со временем одной из центральных проблем. Однако плодотворный подход к исследованию в таком сложном и многогранном явлении, как рак, возможен лишь при точной и целесообразной формулировке вопросов, подлежащих исследованию. Нельзя охватить в конкретной экспе-

риментальной работе или аналитическом исследовании проблеме рака целиком, потому что характеристика раковой клетки состоит не из одного исчерпывающего его сущность тезиса, а из описания ряда свойств, причинная связь между которыми далеко не всегда ясна.

Вместе с тем всегда существует опасность и известный соблазн руководствоваться при выборе вопроса для исследования наибольшей доступностью данного признака или свойства, безотносительно к тому, насколько успех или даже удачное решение поставленного вопроса действительно может приблизить нас к овладению великой проблемой. Если к этому еще прибавить неизбежное и правомерное, хотя и скрытое желание поставить вопросы для исследования так, чтобы открывались хотя бы отдаленные перспективы для борьбы с раковой клеткой, то первостепенная важность и вместе с тем трудность плодотворного выбора подлежащих исследованию вопросов становится очевидной.

Мы пытаемся построить ход нашего анализа, исходя из двух явлений, непосредственно обращающих внимание при наблюдении над развитием раковой опухоли, явлений, которые можно свести непосредственно на свойства раковой клетки: ее агрессивность и деполаризацию.

Первый термин понятен без комментариев, смысл второго выяснится из дальнейшего. Все разнообразные, поддающиеся митогенетическому анализу проявления жизнедеятельности раковой клетки и общей картины ракового заболевания мы будем рассматривать, исходя из того, насколько они содействуют уяснению двух, по нашему мнению, наиболее существенных для овладения проблемой, сформулированных нами характерных свойств раковой опухоли.

Если наш анализ даст некоторые положительные результаты, т. е. вскроет до известной степени механизм осуществления интересующих нас основных свойств, то перед нами откроется, быть может, путь к пониманию наиболее мучительного и трудного вопроса онкологии — проблемы возникновения раковой клетки.

В. АНАЛИЗ АГРЕССИВНОСТИ РАКОВОЙ КЛЕТКИ

Инфильтрирующий рост раковой ткани, ее способность расплавлять все элементы, с которыми она приходит в соприкосновение, должны быть, конечно, в последней инстанции сведены на особенности ее ферментативной деятельности или в более общей форме — на особенности ее метаболизма. Мы пытаемся при этой формулировке выделить чисто механический фактор инфильтрирующего роста, коренящийся в беспредельном размножении раковых клеток, которое обуславливает их внедрение в промежутки и щели прилегающих тканей. Быстрое увеличение клеточных масс само по себе еще не может обусловить инфильтрирующий рост, как это с особенной ясностью видно на некоторых разновидностях раковых опухолей, например, на аденокарциноме эрлиховского типа мыши: подкожные опухоли лишь сравнительно очень поздно сра-

тожают их, хотя по интенсивности своего размножения они, несомненно, превосходят другие типы раковых опухолей.

Мы определяем поэтому понятие «агрессивности» раковой клетки как ее способность к непосредственному, как бы контактному воздействию на соседние, нормальные элементы, аналогично тому, как, например, остеокласты въедаются в костную ткань или некоторые типы инфузорий (так называемые суктории), присасываясь к чужим клеткам, питаются за их счет.

Конкретная задача заключается в выяснении того, какие именно особенности метаболизма раковой клетки могут служить причиной этих явлений.

В нашу задачу, конечно, не входит полный и критический обзор всех накопленных в биохимической литературе данных о метаболизме раковой клетки. Мы ограничимся изложением тех новых фактов, которые удалось выяснить путем митогенетического анализа. При этом необходимо иметь в виду, что хотя эти факты в значительной степени чисто химического характера, вопрос о том, смогут ли они найти непосредственное подтверждение чисто химическими методами, остается пока открытым и не должен, по нашему мнению, влиять на оценку их значения для понимания поставленной нами задачи.

Указания на особенности ферментативной деятельности раковой клетки, рассеянные в литературе, находят подтверждение и значительное расширение благодаря митогенетическому анализу. Но им же выясняется и совершенно новое обстоятельство капитальной важности, ускользающее от обычных методов исследования, а именно вопрос о своеобразии топографического распределения специфических раковых ферментов и аналогичных им тел в раковой клетке. Результаты многообразных исследований приводят к следующему выводу. Поверхность раковой клетки представляет собой орган с чрезвычайно разнообразной и интенсивной ферментативной деятельностью, во многих отношениях отличной от процессов, протекающих внутри клетки. Эти своеобразные свойства клеточной поверхности дают, как нам кажется, достаточное объяснение агрессивности раковой клетки. Для анализа этих сложных явлений нам необходимо детально ознакомиться с митогенетическим режимом раковой клетки.

С. ИЗЛУЧЕНИЕ РАКОВОЙ КЛЕТКИ

Раковая ткань принадлежит к наиболее интенсивным источникам излучения. Аденокарцинома мышши, обнаженная на живом организме, обнаруживает интенсивный эффект уже при 5 секундах экспозиции. Порог времени до сих пор еще не обнаружен. Такие интенсивности нам известны главным образом на неорганических окислительных моделях и лишь на одном примере чрезвычайно интенсивной ферментативной деятельности (кровь головастиков на известных стадиях метаморфоза, по Бляхеру и его школе). излу-

чение других тканей значительно слабее: порог экспозиции для нормальной крови приблизительно в 50 раз больше.

Особенный интерес представляет сопоставление интенсивности излучения раковой ткани и любой другой меристемы с соответственной интенсивностью их клеточного размножения. Для этой цели особенно подходит эпителий роговицы млекопитающего.

Довольно интенсивное на первый взгляд излучение глаза является в действительности главным образом вторичным излучением, т. е. реакцией на облучение, исходящее от детектора. Собственное же излучение эпителия роговицы крайне слабо. В этом можно убедиться, применяя обычные методы дифференцирования первичного и вторичного излучения, т. е. различные ритмы фракционирования подачи фотонов на детектор; в то время как первичное, т. е. по существу непрерывное, излучение дает эффект при любом ритме фракционирования, вторичное, происходящее вспышками, маскируется неподходящими ритмами.

Этот критерий позволяет обнаружить чрезвычайную слабость собственного излучения глаза кролика (на живом), как видно из таблицы.

Испытание излучения роговицы через вращающийся диск с вырезами

Вырезы 20°, расстояния между ними 40°		Вырезы и расстояния по 30°	
время экспозиции	эффект (в %)	время экспозиции	эффект (в %)
45"	0	30"	25
1'	— 7	45"	24
5'	— 4		
8'	45		

По количеству митозов роговица млекопитающего обычно ничуть не уступает раковой ткани. Сопоставления интенсивностей их излучения лишней раз показывают, насколько неправилен довольно распространенный взгляд, что излучение меристем непосредственно связано с клеточным делением.

Мы стоим теперь перед важным вопросом.

Позволяет ли нам интенсивность излучения раковой ткани сделать вывод о чрезвычайно интенсивном метаболизме раковой клетки и можем ли мы на основании спектрального состава эмиссионного спектра выяснить, какие именно процессы ферментативного распада протекают с особой интенсивностью?

На оба вопроса можно дать в настоящее время лишь очень сдержанный ответ.

На примере органов с необычайно интенсивным метаболизмом (в особенности печени) мы уже убедились, что отсутствие излучения не позволяет делать какие-либо выводы относительно слабости метаболизма. Обратный вывод, т. е. суждение об интенсив-

ности метаболизма на основании интенсивности излучения, из этого факта, правда, непосредственно еще не вытекает. Однако интенсивность излучения в очень значительной степени будет зависеть не только от интенсивности процессов расщепления, т. е. от количества освобождающихся при этом радикалов, но и от концентрации способных к флюоресценции тел (флюоресцентов). Последнее обстоятельство еще в большей степени относится к спектральному составу излучения. Мы уже знаем из предыдущего изложения (см. главу I), что спектр характерен, вообще говоря, не для данного процесса, а для данного тела.

При некоторых обстоятельствах, в частности, в интересующем нас случае на основании исследований излучения рака, мы можем, однако, сделать несколько более далеко идущие выводы.

Судя по порогу времени, гликолитическая слагаемая спектра менее интенсивна, чем пептидная и фосфатазная.

Анализ этих цифр, сопоставленный с данными биохимической литературы, приводит нас к следующим выводам.

Тот факт, что флюоресценция глюкозы по своей интенсивности уступает остальным слагаемым, ни в коем случае не может быть истолкован как сравнительно слабая интенсивность гликолитических процессов в раковой клетке. Это стояло бы в резком противоречии с общеизвестными фактами и было бы вообще необоснованно. Гораздо естественнее в данном случае предположить, что концентрация свободной, т. е. способной флюоресцировать, глюкозы в тех участках раковых клеток, из которых улавливается излучение, сравнительно не велика.

Что касается чрезвычайной интенсивности «пептидного» излучения, то новые данные, уже изложенные выше, дают нам возможность прийти к очень важным выводам, значение которых нам станет совершенно ясно из дальнейшего. Так как можно считать установленным (А. А. Гурвич), что ни молекулы белков, ни высокие полипептиды (пептоны) не обладают свойством хемофлюоресценции (т. е. не излучают при поглощении энергии рекомбинации радикалов), то наличие, а особенно интенсивность излучения указывают на чрезвычайно интенсивную в количественном (т. е. по числу молекул) и в качественном (т. е. далеко идущее расщепление) отношении пептидную деятельность раковой клетки.

Этот факт утрачивает свою тривиальность, если принять во внимание, что пептидное излучение является достоянием вовсе не самой клетки, взятой как целое, а, по видимому, исключительно ее поверхностного слоя, представляющего, вероятнее всего, монофильм.

Мы в этом убедимся в дальнейшем при анализе свойств поверхности раковой клетки.

Что касается чрезвычайно интенсивного излучения «фосфатазного» спектра, то оно с почти полной достоверностью может быть сведено на усиленную деятельность фосфатазы, так как фосфорсодержащие органические соединения, о которых могла бы быть

речь в клеточном теле, — нуклеопротеиды, лецитин — не обладают свойствами флюоресцентоов, наличие же свободных фосфатов в протоплазме, конечно, чрезвычайно мало вероятно. Остается поэтому допустить, что речь идет действительно о расщеплении фосфорных органических соединений, так как так называемый «фосфатазный» спектр соответствует, как мы видели, свободному радикалу (иону) фосфорной кислоты.

D. СВОЙСТВА ПОВЕРХНОСТНОГО ФИЛЬМА РАКОВОЙ КЛЕТКИ

Мысль о том, что поверхности раковой клетки присуща совершенно специальные свойства, напрашивается при анализе следующего замечательного явления.

Немедленно по декапитации мыши излучение предварительно обнаженной опухоли совершенно прекращается. Однако поливка опухоли физиологическим раствором с небольшим количеством глюкозы, белков или нуклеиновой кислоты тотчас же и в полной мере восстанавливает излучение, которое также быстро прекращается при замене питательной жидкости чистым физиологическим раствором, причем слит может быть повторен неоднократно. Эта быстрая и радикальная смена всей картины объяснима, как нам кажется, только при допущении, что субстраты приходят в непосредственное и немедленное соприкосновение с ферментами, т. е. что ферменты расположены непосредственно на поверхности клетки.

Дальнейшие исследования дают ряд разнообразных и убедительных доказательств этого положения.

Мы приводим в качестве иллюстрации первые по времени опыты Залкинда и Шабада с поливанием дегтярной опухоли.

*Поливка опухоли поочередно раствором Рингера
и раствором Рингера + глюкоза*

Чистый рингеровский раствор (эффект в %)	Рингеровский раствор + глюкоза (эффект в %)
6	30
1	40

Наиболее убедительным доказательством поверхностного расположения ферментов является возможность их легкого и полного отмыва при кратковременном пребывании вылущенной без повреждений опухоли в небольшом количестве рингеровского раствора. Эти опыты приобретают особую убедительность при сопоставлении их с отрицательными данными, получаемыми на нормальных органах (печени и почке) при соответственных попытках отмыва. Не менее показателен и тот факт, что такой отмыв завершается уже в течение 20—30 минут и дальнейшее пребывание опухоли

в новой жидкости уже не дает тех же результатов. Если бы ферменты выступали из глубоких клеточных слоев, то процесс совершался бы, несомненно, медленнее и длился бы дольше.

Мы приводим несколько данных в таблицах.

Излучение раствора Рингера после пребывания в нем в течение получаса тщательно отпрепарированных, неповрежденных опухолей¹

Время экспозиций (в минутах)	1	2	3	4	5	6
Рингеровский раствор без прибавления субстрата	—	—	—	—	0	30%
Рингеровский раствор с глюкозой (в %)	+40	+40	+9	-24	-28 ³	
Рингеровский раствор с нуклеиновой кислотой (в %)	1	+30		+37		
Рингеровский раствор с белком (в %)	—	3	—	31	—	50

Одна и та же опухоль отмывается по полчаса в двух различных порциях рингеровского раствора

Первый отмыв	Гликолитическая полоса	44%
	Фосфолитическая полоса	30%
Второй отмыв	Гликолитическая полоса	4%
	Фосфолитическая полоса	0

Испытание раствора Рингера после 2—3-часового пребывания в нем органов и прибавления субстратов (глюкозы, белков, нуклеиновой кислоты)

Печень (в %)	8	3	— 2
Селезенка (в %)	0	— 3	— 1
Почка (в %)	3	6	4

Более конкретные представления о структуре поверхностного слоя и его связи с клеточным телом мы составим себе в дальнейшем.

Но мы должны остановиться несколько ближе на химических свойствах отмыва.

Здесь необходимо отметить, что в его состав входят, помимо обнаруженных по своему действию на субстраты трех ферментов (гликолитического, протеазы и фосфатазы), еще некоторые тела со своеобразными свойствами, о которых будет речь впереди.

¹ Для опытов были использованы лишь те случаи, где рингеровский раствор после пребывания в нем опухоли не обнаруживал и следов помутнения, которое могло бы быть причинено повреждением ткани.

² Переход положительного эффекта в угнетение доказывает особенную интенсивность процесса.

Но и эти три фермента в некоторых отношениях своеобразны.
1. В противоположность равноценным им ферментам, встречающимся в других средах (например, в крови), ферменты отмыва заряжены отрицательно.

Ввиду важности этого обстоятельства мы даем здесь некоторые детали обнаружения заряда путем катафореза.

Средний участок U-образной трубки, снабженной двумя кранами, заполняется отмывной жидкостью, т. е. рингеровским раствором после пребывания в нем опухоли; емкость средней части равна приблизительно 10 мм³.

Оба крайние участка заполняются 1% раствором хлористого натрия. В них погружены платиновые электроды.

Постоянный ток при 40 V дает при условиях опыта 20—25 mA. Сила тока регулируется включенным в сеть реостатом. Длительность катафореза 5—6 часов. По его окончании краны закрываются и испытываются свойства анодной и катодной фракции. Анодная фракция, с сильно кислой реакцией, перед испытанием нейтрализуется бикарбонатом.

Действие всех трех ферментов при прибавлении соответственных субстратов обнаруживается исключительно в анодной фракции.

2. Помимо отличий в электрическом заряде ферменты эти отличаются чрезвычайно низким температурным коэффициентом.

Например, в то время как излучение гемолизированной крови совершенно прекращается при температуре 5°, действие этих ферментов при снижении приблизительно до 3° не претерпевает сколько-нибудь заметного снижения интенсивности излучения.

Помимо своеобразной модификации обычных ферментов, в отмыве обнаруживаются еще два своеобразных вещества, из которых одно специфично для злокачественных образований: речь идет о так называемом «тушителе» и о недавно обнаруженном и еще не вполне изученном веществе, получившем предварительное название «синтезин». Вещество это, которое может быть обнаружено и в вытяжках из печени (возможно, и из других паренхиматозных органов), было упомянуто нами в главе 7 (стр. 129). Вопрос о тушителе приобрел за последнее время особую важность ввиду значения феномена тушения в качестве средства раннего диагноза рака. Методы и результаты его применения и теоретический анализ самого феномена излагаются в отдельной главе (глава 10). Сам вопрос интересует нас здесь с другой стороны.

Появление тушителя, несомненно, в значительной степени осложняет всю картину своеобразия раковой клетки, и выбранные нами в качестве основ нашего анализа два явления — агрессивность и деполяризация — являются, повидимому, недостаточными. Однако включение тушителя в качестве «орудия агрессии» является само по себе довольно правдоподобным, так как подавление клеточных делений, а быть может, и некоторое угнетающее действие на метаболизм прилегающих к растущей опухоли тканей вряд ли можно считать вполне безразличным. Что касается условий возникновения тушителя в процессе канцеризации, то здесь мы находимся в полном неведении. Однако весьма вероятно, что тушитель является какой-то модификацией нормальных ферментов (см. главу 3).

Е. СТРОЕНИЕ ПОВЕРХНОСТНОГО СЛОЯ И ЕГО СВЯЗЬ С КЛЕТЧНЫМ ТЕЛОМ

Легкая отмываемость ферментов от опухоли является, повидимому, в физиологическом смысле артефактом, т. е. не может быть истолкована как доказательство выделения тех же веществ в окружающую среду при физиологических условиях. Речь идет скорее о квоого рода искусственном эволюционном процессе жидкостями, не являющимися, конечно, полной заменой нормальных омывающих клетки сред и при этом в условиях переживания, т. е. тоже далеко не физиологических. Но именно сходство с процессами эволюции от обычных адсорбентов и является подтверждением основного представления о поверхностном слое раковой клетки как о монофильме.

Доказательством нефизиологичности процесса отмыва могут служить следующие опыты: свежевылушенная опухоль помещается по возможности в физиологическую среду, а именно под кожу или в брюшную полость здоровой живой мыши. По прошествии не меньше 40 минут опухоль вынимается и погружается на полчаса в обычный рингеровский раствор и потом испытывается на наличие ферментов. Получается обычный положительный эффект, из чего можно сделать вывод, что в то время, как рингеровский раствор за соответственное время нацело выщелачивает поверхность клеток, чисто физиологические жидкости этого действия не производят. Излучение жидкости Рингера после пребывания в ней опухоли, предварительно выдержанной 40 минут под кожей или в брюшной полости живой мыши (прибавление 0,5% глюкозы), несколько не ослабевает.

Поверхностный слой обладает значительной автономностью по отношению к остальным участкам клеточного тела, и между ними проявляется до некоторой степени антагонизм.

Эти взаимоотношения выражаются в следующих явлениях.

Во-первых, входящие в состав фильма ферменты, повидимому, не оказывают воздействия на расположенные под ними субстраты, т. е. составные части клеточного тела; в этом можно убедиться на основании немедленного исчезновения излучения после декапитации животного. Проще всего это можно объяснить, если представить себе, что ферменты образуют монофильм или входят в его состав, причем направлены своими активными группами наружу и закорены в клеточном теле своими неактивными носителями. При этом становится, конечно, невозможной непосредственная близость активных групп с субстратами.

Особенно резко проявляется высокая степень автономности поверхностного фильма в явлениях антагонизма с внутренними слоями клетки.

В свежеприготовленной вытяжке (кашице) из размозженной в прессе раковой ткани содержится своеобразное начало, тормозящее действие как пушителя, так и синтезина, легко отмываемых, как мы видели, от раковой ткани. При этом речь идет только о торможении, а не о каком-либо ином более глубоко идущем

воздействии, так как после кипячения вытяжки в ней снова обнаруживается наличие Синтезина, но, конечно, не термолabileного тушителя.

Наряду с этим тушитель может быть отделен от вытяжки путем катафореза вследствие своего заряда. Синтезин отделяется, помимо этого, и путем диализа через коллоидную пленку, так как тормозящее высокомолекулярное вещество при этом не диализируется.

Наряду с этим при прибавлении соответственных субстратов — глюкозы, белков — вытяжка обнаруживает интенсивное излучение. Мы видим, таким образом, что угнетающее действие обнаруженного внутриклеточного вещества относится лишь к веществам, сконцентрированным на клеточной поверхности, должно быть, в виде монофильма.

Оценка биологического значения этого «ингибитора» пока еще не ясна, и мы вернемся к этому вопросу в дальнейшем.

Своеобразные свойства поверхности фильма поддерживаются и сохраняются лишь на живом организме. При переживании он быстро эволюционирует в смысле дезагрегации. В этом можно убедиться на основании ряда фактов.

Прежде всего мы констатируем, что, в то время как поверхность живой раковой опухоли практически не утомляется от митогенетического облучения немедленно после декапитации, т. е. уже в первые минуты переживания, она при облучении подвергается изменениям, которые приходится толковать как дезагрегацию фильма, которая наступает и спонтанно, без лучевого воздействия, но проявляется в этом случае примерно через полчаса после прекращения кровообращения. О дезагрегации мы судим по появлению излучения переживающей опухоли, по своему составу резко отличающегося, как мы увидим, от излучения живой опухоли. Отсутствие излучения в первые 25—30 минут переживания мы в соответствии с этим толкуем как задержку излучения фильмом.

Для иллюстрации сказанного мы приводим несколько экспериментальных данных.

Излучение из живой и переживающей опухоли после облучения

Длительность предшествующего облучения в минутах	Живая опухоль в %	Опухоль после декапитации в %
0	63	
27	54	
0		0
5		36

Своеобразие поверхностного фильма выражается и в различном поведении входящих в его состав ферментов, в зависимости от того, идет ли речь о живой или переживающей опухоли.

В то время как мы только что убедились в сравнительной неуязвимости на живом, соответственное облучение переживающей опухоли приводит к инактивированию ферментов.

Для опытов подобного рода облучение опухоли производится со всех ее поверхностей: опухоль насаживается при этом на тонкую горизонтально поставленную иглу, монтированную на медленно вращающейся оси, и при вращении подвергается поочередно облучению всей своей поверхности. После этого она подвергается обычным образом отмыву в рингеровском растворе. Испытание жидкости соответственными субстратами обнаруживает полную утрату ферментативной активности.

Точно так же чувствительны к облучению и отмывые от необлученной опухоли ферменты.

Мы приводим в качестве примера следующий опыт. Жидкость Рингера после пребывания в ней опухоли делится на две половины: одна подвергается облучению, другая нет. После этого обе жидкости испытываются на их действие на растворы глюкозы и нуклеиновой кислоты.

Излучение при прибавлении глюкозы и нуклеиновой кислоты показывает следующие данные.

	Облученная жидкость	Необлученная жидкость
Глюкоза	3%	43%
Нуклеиновая кислота	8%	33%

Своеобразный иммунитет ферментативной пленки на живом может быть объяснен различным образом:

1) непрерывным созданием новых молекул фермента взамен выбывающих из строя вследствие фотодиссоциации;

2) пространственными факторами, если принять, что уязвимыми являются коллоидальные носители ферментов, защищенные направленными наружу активными группами;

3) связью ферментов с адекватными субстратами: ряд экспериментальных данных указывает, что ферменты крови ведут себя неодинаково по отношению к облучению в зависимости от наличия или отсутствия субстратов вроде глюкозы и т. д.

Мы попытаемся теперь проанализировать изложенные факты.

Чрезвычайно интенсивное пептидное излучение живой опухоли не оставляет при условиях опыта сомнений в том, что эпителиально происходит интенсивное и глубоко идущее расщепление белковых тел омывающей питательной среды¹.

Факту эпителиального протеолиза мы должны придавать, конечно, первостепенное значение: в нем, как нам ка-

¹ Отметим, что собственное пептидное излучение крови требует 8 минут экспозиции.

жется, и лежит ключ к пониманию агрессивности, т. е. расплавляющего действия раковой клетки на прилежащие тканевые элементы.

Протеолиз приобретает, однако, еще большее значение в связи с наличием в поверхностном фильме синтезина и со своеобразием белкового обмена в более глубоких слоях раковой клетки.

Мы видели уже, что «пептидное» излучение указывает на наличие, а в данном случае и на образование продуктов глубокого распада, т. е. образования сравнительно простых пептидов. Наличие же синтезина в поверхностном фильме и ограничение его активности именно поверхностью указывают на то, что тут же, непосредственно после процесса расщепления, совершается по крайней мере частичный ресинтез пептидов до их поступления вглубь раковой клетки.

Наряду с этим из глубины раковой клетки вообще не может быть обнаружен пептидный спектр, несмотря на то, что остальные две слагаемые излучения, соответствующие глюкозе и фосфатам, обнаруживаются на трупе после дезагрегации фильма в полной интенсивности. Что речь идет при этом именно об излучении из глубины клетки, а не с поверхности, видно из того, что в противоположность чрезвычайно слабому температурному коэффициенту отмываемых с поверхности ферментов излучение переживающей опухоли обнаруживает очень значительный температурный коэффициент.

Излучение переживающей опухоли после получасового пребывания в трупе

Температура . . .	10—12°	22—24°	38°	Состав спектра		
Время экспозиции 5'		2'	45"			
Эффект в %	{ 24	70	59	41	39	Гликолитический Пептидный Фосфатный
	{ 0	2	4	—7	10	
	{ —9	54	30	34	87	

Ввиду резко выраженного интенсивного излучения глюкозы, которое по своему спектральному составу (наибольшая коротковолновость) легче всего могло бы подвергнуться поглощению поверхностного слоя, отсутствие пептидного излучения никоим образом не может быть сведено на этот фактор.

Мы стоим, таким образом, перед реальным фактом первостепенного значения.

Внутри раковой клетки не происходит сколько-нибудь заметного и глубокого расщепления собственных белков. По крайней мере можно сказать, что низшие пептиды в ней отсутствуют¹. Наряду с этим происходит чрезвычайно интенсивная эпителилярная ассимиляторная деятельность раковой клетки за счет окружающей среды.

¹ В эмиссионном спектре различных нормальных тканей (в том числе меристем) пептидные слагаемые, наоборот, всегда представлены.

Возможно, что агрессивность раковой клетки не ограничивается пептидной деятельностью ее поверхности. Необходимо принять во внимание и наличие тушителя, т. е. подавление собственного излучения прилегающих к раковым клеткам тканевых элементов.

Вопрос о тушителе настолько сложен и интересен в самых различных отношениях, что мы посвятим ему, как уже указывали, особую главу.

Ф. ПОНЯТИЕ ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ РАКОВОЙ КЛЕТКИ

Морфологическая симметричность митозов находится, вообще говоря, в явном противоречии с биологической асимметрией акта деления. Мы не знаем ни одного клеточного комплекса, где обе дочерние клетки были бы одинаковы или равноценны в биологическом смысле¹. Мы имеем при этом, конечно, в виду не чисто случайные статистические колебания в распределении их свойств. Само собой разумеется, что идеальное равенство сложных систем вообще невозможно. Речь идет о неравноценности принципиального характера, выражающейся в том, что все физиологические меристемы как растительных, так и животных объектов имеют вполне ограниченные, более или менее резко очерченные зоны клеточного размножения. Вследствие этого рано или поздно, т. е. всегда после ограниченного числа клеточных делений, дочерние клетки достигают границы этой зоны, причем одна из них остается в ее пределах, другая выступает за эти пределы и тем самым утрачивает способность к дальнейшему делению, в то время как ее партнер, оставшийся по эту сторону границы, продолжает совершать деления.

Степень и объем очерченности зон размножения в различных меристемах различны.

Так, например, в медуллярной трубке и мозговых пузырях она ограничена одним единственным, прилегающим к полости клеточным слоем. Приблизительно в этом же роде построен и герминативный слой обычных многослойных эпителиев.

В этих случаях каждый митоз биологически резко асимметричен, так как одна из дочерних клеток уже утратила способность к дальнейшему делению.

В меристемах иных типов, например, в растительных корешках, в либеркуловых железах, в зародышевых центрах лимфатических узлов, асимметрия непосредственно проявляется только после неоднократных квази-симметричных делений. Но ясно, что и в этих случаях истинной симметрии все же не может быть.

Представим себе для простоты меристему корешка: любая клетка, взятая из середины меристемы, является потомком клетки, расположенной у кончика. Тем, что одна из дочерних клеток от-

¹ Мы имеем, конечно, при этом в виду лишь очаги размножения (так называемые меристемы взрослых или позднеэмбриональных стадий). До тех пор, пока эмбриональные клетки сохраняют свою полную эквипотенциальность, дочерние клетки (а следовательно, и митозы) могут считаться биологически симметричными.

стоит дальше от кончика, чем другая, она вступает на новый путь, который выражается, между прочим, в том, что она приступает к процессу роста путем вытяжения. Клетка же, оставшаяся у кончика корешка, сохраняет свою величину. Несмотря на то, что отходящая от полюса корешка клетка еще разделится, при этом неоднократно, каждое последующее деление будет повторять ту же асимметрию дальнейшего поведения дочерних клеток.

Мы вправе, конечно, распространить вывод, вытекающий в данном случае из непосредственного наблюдения над неодинаковостью вытяжения двух дочерних клеток, и из те меристемы, где непосредственно наблюдаемых различий между двумя клетками-сестрами нет. И здесь тоже топографическое распределение митозов приводит к биологической неравнозначности двух дочерних клеток.

Мы можем, однако, поставить вопрос несколько глубже: какой момент является решающим в определении судьбы каждой из дочерних клеток? Является ли топографическое распределение решающим фактором или, наоборот, биологическая асимметрия определяет собой и топографическое распределение?

Мы поясним этот несколько абстрактно поставленный вопрос на конкретном примере.

Эпителлиальные клетки перед делением обычно округляются, и ось веретена устанавливается в плоскости эпителия. Таким образом, по крайней мере на первых фазах деления, намечается полная топографическая симметрия будущих дочерних клеток. Однако обычно уже в телофазе совершается поворот общей оси, приводящий к тому, что лишь одна из клеток остается в первоначальном базальном слое, другая от него отходит и этим самым утрачивает способность к дальнейшему делению. Поставленный нами вопрос сводится, таким образом, к тому, является ли выход одной из клеток из базального слоя причиной или следствием утраты ее способности к делению.

Решить этот вопрос с полной определенностью, конечно, невозможно, но по аналогии с разобранными нами растительными меристемами, где положение вещей гораздо более ясно, можно с большой степенью вероятности сказать, что выход клетки из базального слоя является следствием ее немеристемного характера. Действительно, в меристеме корешка, где нет и речи о свободных передвижениях или перемещении клеточной оси, каждая клетка делится совершенно непосредственно на две неодинаковые по свойствам дочерние клетки и этим проявляет свою присущую ей полярность. Вполне естественно поэтому приписать в конечном счете такие же результаты в животных меристемах, достигаемые, правда, гораздо труднее обозримым путем, тому же принципу собственной полярности меристемных клеток. Едва ли надо указывать на то, что, говоря о полярности клетки, мы не имеем в виду обычных гистофизиологических фактов, проявляющихся с собой яркостью, например, в железистых клетках. Речь идет о полярности более интимного характера, проявляющейся лишь

при специальных обстоятельствах, например, при клеточном делении. Биологическая асимметрия митозов является, конечно, не единственным проявлением полярности клетки. Вышедшая из меристемного состояния клетка вступает этим самым на путь прогрессивного развития, так называемой дифференцировки. Таким образом, деполяризация клетки, проявляющаяся в ее малигнизации, равнозначна утрате способности к прогрессирующей эволюции.

Из анализа и определения полярности вытекает, конечно, и определение деполяризации, констатируемой в раковой клетке.

В противоположность всем остальным меристемам митозы раковой клетки биологически вполне симметричны, т. е. обе дочерние клетки по своей организации сохраняют одинаковые свойства размножения (и отсутствие дифференцировки). То, что их дальнейшая судьба может быть очень различной и одна из них, например, подвергается некрозу, так часто наблюдаемому в некоторых видах опухолей, конечно, несколько не меняет сути дела. Отсутствие специальной меристемной зоны в опухолях является, конечно, банальным, хорошо известным фактом, из которого не делаются, однако, должные выводы. Между тем в нем и заключаются, собственно говоря, все особенности роста раковой ткани.

При сопоставлении раковой клетки с различного рода нормальными обычно прибегают к аналогии с эмбриональной тканью. Ничто не может быть менее удачным, так как эмбриональные клетки в принципе, т. е. в большинстве их категорий, рано или поздно выходят из меристемного состояния. Сравнивать раковую клетку в смысле безграничного размножения и полного отказа от дифференцировки можно лишь с герминативной зоной физиологических меристем (очагов размножения), и здесь противопоставление полярности меристемной клетки и отсутствие полярности раковой и являются решающим критерием их различия в смысле размножения.

Придавая такое большое значение деполяризации раковой клетки, мы должны, конечно, попытаться составить себе некоторое представление о постепенном ходе этого процесса, являющегося, несомненно, одной из существенных ступеней канцеризации. Мы вернемся к этому важному вопросу в конце главы.

Спектральный анализ деградационного излучения растительных меристем показал нам, что полярность связана с неравновесными молекулярными констелляциями, и в этом факте мы можем видеть ключ к пониманию давно известных, но трудно истолковываемых экспериментальных данных, указывающих на значение клеточной поверхности для установления полярности клетки.

Мы имеем в первую очередь в виду старые замечательные наблюдения Нолля (Noll), оставшиеся, к сожалению, почти незамеченными.

Водоросль *Vryopsis* построена по синцитиальному типу: протоплазма ее древовидного тела представляет тонкий прилегающий к целлюлозной оболочке слой, находящийся в непрерывном и очень быстром движении, увлекающем за собой и ядра.

Отрезанная ветка немедленно приступает к регенерации, приводящей к образованию типичных, разветвляющихся наподобие елочных ветвей отростков. (При этом ток протоплазмы и ядер ни на мгновение не прекращается и в тех участках, в которых протекают в это время морфогенетические процессы регенерации.

Нолль вполне правильно увидел в этих фактах глубокую проблему, сформулировав ее следующим образом.

Если на том месте регенерата, где происходит, например, в настоящий момент выпячивание, протоплазма и ядра в быстром токе непрерывно сменяются, где искать тот фактор, который определяет и руководит местным морфогенным процессом?

Ответ на этот вопрос автор дает в следующей форме.

В тончайшем субмикроскопическом слое протоплазмы, непосредственно прилегающем к оболочке, локализовано «чувство формы» (морфестезия). Другими словами, решающим фактором является субмикроскопический поверхностный слой протоплазмы, который мы предположительно можем отождествить с монофильмом. При этом роль этого фактора сводится именно к установлению и поддержанию полярности.

Второе, не менее убедительное доказательство связи полярности непосредственно с клеточной поверхностью мы можем почерпнуть из результатов, получаемых при интенсивном центрифугировании яиц, в особенности иглокожих и червей. Микроскопическая картина распределения пигментов и желточных пластинок с очевидностью указывает на то, что ни одна составная часть яйцевого тела не осталась на своем первоначальном месте и произошло глобальное идущее пространственное перераспределение всего материала. Вместе с тем дробление и эмбриональное развитие идут при этом вполне нормально, причем, что представляет для нас особый интерес, оси личинок устанавливаются совершенно безотносительно к распределению составных частей протоплазмы.

Единственный вывод напрашивается сам собой: оси зародыша, т. е. его полярность, определяются той частью яйцевого тела, которая не затрагивается перемещениями, т. е. наиболее поверхностным слоем, который мы и в этом случае предположительно отождествляем с поверхностным монофильмом.

Связь полярности клетки с монофильмом становится особенно понятной в свете наших представлений о механизме реакций живых систем (глава V). Так как субстратом реакции являются для нас молекулярные констелляции и макрореакции в ответ на воздействие ничтожных по своей интенсивности внешних факторов возможны лишь вследствие цепного характера реакций, то вполне естественно предположить, что старт реакций дается процессами в поверхностном монофильме и качественная ее сторона определяется его свойствами. Однако этим вовсе не предreshается, что

деполяризация зависит исключительно от поверхностного фильма; такое заключение было бы явно односторонним. Наоборот, совершенно несомненно, что малигнизация связана с глубокой перестройкой всего клеточного тела. Это вытекает непосредственно из факта утраты малигнизирующейся клеткой способности к необратимым процессам дифференцировки.

G. ОСОБЕННОСТИ ДЕЛЕНИЯ РАКОВОЙ КЛЕТКИ И ЗАВИСИМОСТЬ ОТ ЛУЧЕВОГО РЕЖИМА

Митогенетическое облучение раковой ткани на живом или немедленно по декапитации не дает никаких результатов в смысле сдвига количества митозов. Так, например, два соседних участка опухоли немедленно после смерти дали следующие цифры (по Пономаревой) на 100 полей зрения¹:

Облученный участок	Необлученный участок
205	207
319	322

Этот отрицательный результат приобретает особенный интерес в сопоставлении с ярко положительными при облучении после полчасового пребывания опухоли на трупе.

При облучении необходимо, конечно, учитывать лишь несколько поверхностных слоев клеток. Для этих опытов пригодны лишь маленькие метастазы в селезенку, печень, диафрагму, представляющие плоские круглые бляшки около 1 мм толщины. Поверхность таких метастазов совершенно обнажена, состоит из нескольких слоев раковых клеток без некрозов. Такие бляшки делятся послоям и вполне пригодны в качестве контроля и объекта облучения.

Поведение клеток роговицы существенно отличается от только что изложенных фактов.

Облучение на живом приводит к немедленному сдвигу числа митозов, который по совокупности обстоятельств может быть истолкован как стимуляция ритма процесса.

Отсутствие эффекта на живой опухоли может быть гипотетически сведено на непроницаемость живой раковой клетки для

¹ Технической предпосылкой всех дальнейших опытов с раковой тканью, выполненных Ю. Н. Пономаревой, являются следующие данные относительно распределения в ней митозов. Индивидуальные колебания в числе митозов в различных участках довольно велики, но процентные отношения числа митозов в различных участках одной опухоли поразительно устойчивы. Так, например, в 50 полях зрения в различных, отстоящих на 5—6 мм друг от друга участках 5 опухолей были найдены следующие числа:

опухоль 1-я	80	90	95	80			
»	2-я	35	42	40	45	40	36
»	3-я	56	55				
»	4-я	34	40				
»	5-я	69	66				

Это постоянство и дает возможность рассматривать два соседних маленьких фрагмента опухоли один как контрольный, второй как опытный при воздействии на них того или иного фактора.

Число митозов после 3-минутного облучения поверхности опухоли (через 30 минут после декапитации) на 100 полей зрения (по Пономаревой)

Облученный участок	Необлученный участок	Эффект в %
218	130	67
204	113	80
271	196	38
236	148	59
240	173	38
350	170	105
399	332	20
186	89	100
178	111	60
112	73	53
135	82	64

облучения извне (ср. стр. 208) и поэтому не представляет существенного интереса.

Вместе с тем мы убеждаемся, что отношение к облучению переживающей раковой клетки не дает нам указаний относительно клеток в живой опухоли. Было бы, однако, неправильным делать из этого заключение, что раковая клетка при физиологических условиях, т. е. на живом, вообще независима от лучевого режима в смысле возникновения и течения деления. Вполне возможно, что решающее значение имеет для нее внутриклеточный митогенетический режим, на который внешнее облучение не оказывает никакого действия вследствие непроницаемости поверхностного фильма для митогенетических интенсивностей.

Правомерность этого заключения вытекает из опытов с введением гасителей или гидролизованного тушителя (ср. главу 10), раковым мышам.

Для понимания дальнейшего необходимо предварительно ознакомиться с реакцией раковой клетки на охлаждение.

Если из двух фрагментов раковой опухоли (свежевынутой или сохраненной на трупе до 30—40 минут) один подвергнуть в течение 10 минут действию (температуры 38—39°, другой 5—20° и немедленно после этого зафиксировать, то обнаруживается значительный дефицит на холодном кусочке.

Число митозов на 200 полей зрения

	Разница в %	
	5°	Немедленно по декапитации
38°		
364	207	} 75
773	484	
38°	16°	
400	260	54
551	443	23
326	239	36
456	320	42
311	205	66
419	264	55

Единственное возможное толкование этих данных следующее.

При условиях опыта кусочки до погружения в соответственные влажные камеры или физиологические растворы с различными температурами успевали охлаждаться до комнатной температуры (около 16—18°), при которой митозы теплокровных фактически почти замирают.

Нагревание до 38° исходило поэтому из этой температуры. Таким образом, если принять, что оно завершалось в течение нескольких секунд, за 10 минут нормальной обстановки успела развиться снова интенсивная пролиферационная деятельность клеток, в среднем на 50% выше контрольной.

Мы видели, что такой же эффект получается при облучении переживающей раковой ткани в течение всего лишь 5 минут.

Сопоставляя эти данные, мы приходим к выводу, что длительность митоза раковой клетки (без облучения извне при оптимальной температуре в 38° или при комнатной температуре при облучении) порядка 10—12 минут.

Резкое изменение в результатах наступает после введения (подкожного) раковой мыши гасителя или гидролизованного тушителя¹. Опыты с влиянием температур (5° и 38°) дают при этом нулевые результаты.

5°	38°	
839	868	3%
1 033	1 060	2%
1 117	1 114	0
660	666	0

Из этих данных можно сделать лишь один вывод: ритм деления раковой клетки, в которую проник гидролизованный тушитель (или гаситель, настолько замедляется, что за промежуток в 10 минут не обнаруживается сдвига в общем числе митозов. Однако следует отметить, что во всех четырех случаях число спирем в теплом кусочке меньше, чем в холодном:

5°	38°
58	40
114	47
334	268
195	157

Эти числа можно предположительно толковать в том смысле, что часть спирем успела продвинуться за 10 минут в стадию метафазы, а новые спиремы еще не успели появиться.

Повидимому, гораздо более резко, чем при воздействии на опухоль на живом организме, обнаруживается действие тушителя и гасителя на клетке злокачественного образования (саркома) в культурах тканей. Мы имеем в виду незаконченные еще исследования

¹ Легко проникающих в клетки.

Песоченского, в которых в ряде случаев обнаруживается очень резкая приостановка роста культур при прибавлении гасителя или тушителя. Этими опытами можно, как нам кажется, считать установленной зависимость делений раковых клеток от собственного, т. е. внутриклеточного, лучевого режима.

Вопрос о возможности полного подавления размножения раковых клеток путем угнетения их излучения имеет, конечно, колоссальное значение и в настоящее время еще очень далек от разрешения. Экспериментальные трудности здесь очень велики. Помимо этого, есть основания думать, что раковые клетки в довольно значительной мере разрушают применяемые угнетающие излучение вещества или вырабатывают антитела и что поэтому полное длительное подавление излучения практически не выполнимо.

Если по ритму своего размножения и даже по отношению к излучению раковая клетка не отличается очень существенно от некоторых нормальных меристем, то все же очень знаменательно то обстоятельство, что переживающая раковая клетка ведет себя существенным образом по-другому, чем, например, эпителий роговицы лягушки: в последнем объекте облучением достигается лишь сдвиг в ритме митозов, находящихся уже в ходу в момент облучения, но не возникают новые митозы, как в переживающей раковой ткани.

Это различие тем более замечательно, что, так как опыты производятся при комнатной температуре, клетки роговицы лягушки находятся в оптимальных условиях, раковые же клетки фактически почти замерли и в своем метаболизме, и в ходе митозов. Тем удивительнее, что облучение вызывает немедленно бурную реакцию, приводящую уже через 5 минут к очень значительному увеличению, даже к удвоению числа митозов. Это поведение раковой клетки можно образно назвать ее постоянной готовностью к мобилизации всех ресурсов в противоположность нормальным меристемным клеткам.

Вместе с тем не следует упускать из виду, что это состояние очень непродолжительно и сохраняется при переживании при комнатной температуре всего лишь в течение получаса, при оптимальной температуре гораздо более короткое время.

Это вытекает из опытов (Пономаревой).

Опухоль разрезается пополам, и половинки хранятся в течение 30 минут в насыщенной влагой среде, одна при 38° , другая при 18° . После этого из каждой половинки выделяется два небольших куса и с каждой парой воспроизводится обычный температурный опыт, т. е. одна из них выдерживается 10 минут при 38° , другая при 4° .

Куски, взятые из половинки, хранившейся при комнатной температуре, реагируют обычным образом, т. е. приростом числа митозов в тепле, материал же, хранившийся все время в тепле, вообще не реагирует на температурные изменения 38° (полчаса) + $+38^{\circ}$ (10 минут) — 683 митоза: 38° (полчаса) + 4° (10 минут) —

715 митозов. Разница — 4%, 18° (полчаса) + 38° (10 минут) — 803 митоза; 18° (полчаса) + 4° (10 минут) — 451 митоз. Разница — 91%.

Объяснить консервирующее влияние сравнительно низкой для данных клеток температуры можно, конечно, лишь тем, что значительно замедляются процессы метаболизма, т. е. потребление каких-то, повидимому, очень незначительных резервов веществ, нужных для митоза.

Наличие этих «мобильных» веществ, повидимому, специфично для раковой клетки.

Объяснение этого замечательного факта мы можем найти в сопоставлении свойств поверхностного (фильма) раковой клетки с своеобразным веществом, обнаруженным нами внутри клетки.

Мы уже упоминали, что в отмыве от вылущенной в неповрежденном виде аденокарциномы мышцы обнаруживается «синтезин» (ср. стр. 129), под влиянием которого образуются пептиды из аминокислот и пептона, расщепляемые пепсином.

Однако если вместо отмыва подвергнуть испытанию вытяжку из растертой опухоловой ткани, в которую, конечно, входят и составные части поверхностного фильма, то присутствия синтезина обнаружить не удается. Этот отрицательный эффект приходится свести на присутствие в разможенном веществе раковой ткани вещества, подавляющего действие синтезина.

Действительно, удастся двояким образом убедиться в том, что синтезин в вытяжке имеется, но не проявляет своего действия.

Во-первых, при диализе вытяжки через коллоидную гильзу синтезин обнаруживается в наружной жидкости и снова подавляется, если к ней прибавить незначительное количество из содержимого коллоидного мешочка.

Достаточно, однако, вскипятить вытяжку из раковой ткани, чтобы проявился в полной мере заключающийся в ней синтезин.

Мы видим, таким образом, что в раковых клетках содержится высокомолекулярное, термолабильное вещество, тормозящее внутриклеточное проявление синтезина, при этом его не разрушая.

Это вещество не является, впрочем, непосредственным антагонистом синтезина: проще всего было бы допустить, что оно, действуя наподобие пептидазы, немедленно по мере образования пептидов под действием синтезина снова их разрушает. Однако легко убедиться, что это не так.

Действительно, прибавление вытяжки к уже полученным при действии синтезина пептидам не сопровождается излучением, что должно было бы иметь место при их расщеплении.

Механизм угнетающего действия этого внутриклеточного вещества остается пока неясным.

Интересно отметить, что угнетающее действие этого вещества распространяется и на действие тушителя (ингибитора): и здесь получается парадоксальный на первый взгляд факт, что в то время как отмыв от неповрежденной опухоли оказывает яркое тушащее действие на любой источник излучения, кашница или вытяжка из разможенной раковой ткани не обладает активностью.

Эти два факта имеют, несомненно, глубокое биологическое значение, которое станет нам особенно ясно, если мы сопоставим в этом отношении раковую клетку с печеночной.

Ткань печени также вырабатывает синтезин, по имеющимся в нашем распоряжении данным не отличающийся от ракового. Но в то время как последний содержится и активен лишь на поверхности клетки, синтезин печени может быть добыт только из вытяжки размозженной ткани.

Из этого сопоставления уже вытекает следующее.

Так как, как мы видели, активность синтезина проявляется и на пептоне, т. е. на смеси из сравнительно высоких пептидов, то можно себе представить, что его внутриклеточная деятельность в печени, для которой, повидимому, не существует тормозящего начала, приводит к синтезу высоких поликонденсатов, вплоть до белковых тел.

Другими словами, в печени при нормальных обстоятельствах, повидимому, не представлены те «мобильные» пептиды, которые, несомненно, существуют в раковой клетке. Это подтверждается и тем, что печеночная ткань в физиологических условиях не излучает, так как, как мы видели, белки не являются флюоресцен-тами.

Способность печеночных клеток накапливать в больших количествах белки, впрочем, давно известна и подтверждена, между прочим, и гистологическими исследованиями [Берг (W. Berg)].

Белковый режим раковой клетки настроен, повидимому, на совершенно иной лад. Наличие синтезина в поверхностном фильме обеспечивает непрерывное образование пептидов непосредственно за счет омывающей питательной среды. Но дальнейший внутриклеточный синтез тормозится вследствие угнетения деятельности синтезина. Таким образом, можно себе представить, что пептиды сохраняются в «мобильном» состоянии.

Но вместе с тем торможение внутриклеточного действия ту-шителя гарантирует сохранение внутриклеточного излучения, и этим, повидимому, поддерживается нужная степень непрерывного по ходу митоза синтезирования.

В результате получается, повидимому, тонко сбалансированное равновесие между двумя антагонистическими, т. е. борющимися друг против друга, процессами.

Н. НЕКОТОРЫЕ СООБРАЖЕНИЯ О ПРОЦЕССЕ КАНЦЕРИЗАЦИИ КЛЕТКИ И МИТОГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИЗЛУЧЕНИЕ КАК ЭТИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКТОР

Мы попытались в предшествующей главе свести особенности раковой клетки по сравнению с нормальными меристемами к двум основным пунктам: агрессивности, обусловленной поверхностным ферментативным фильмом, и к ее деполяризации, т. е. биологической симметрии ее митозов.

Всякая попытка создать некоторые представления о ходе возникновения этих двух характерных черт может представлять инте-

рес лишь в том случае, если она будет унитарна, т. е. если оба, на первый взгляд не связанные друг с другом явления смогут быть сведены к одному, общему принципу.

Мы пытаемся воссоздать мысленно и, конечно, чисто гипотетически постепенный ход канцеризации нормальной меристемной клетки, исходя из ряда разнообразных экспериментальных данных и связанных с ними соображений.

Основная, подлежащая анализу, гипотеза заключается при этом в следующем.

1. Возникновение опухолей под воздействием карциногенных веществ, вызываемое экспериментальным путем, является вместе с тем прототипом их возникновения, представляющегося нам спонтанным.

2. При действии карциногенных веществ решающим фактором является их излучение.

Излучающая способность экзогенных карциногенных веществ, как видно из следующего параграфа, может считаться доказанной. То же самое относится к открытому Л. М. Шабад эндогенному карциногенному веществу.

Для оценки степени правдоподобия гипотезы мы должны прежде всего вспомнить, насколько резко результаты воздействия облучения на живые системы.

Основной митогенетический эффект является далеко не полным отражением всей мощности воздействия митогенетического облучения на живые системы.

Мы уже перечисляли в главе V ряд «макроэффектов» — уродства яиц и личиной морских ежей, паралич нерва, повышение проницаемости животных и растительных клеток, с совершенной очевидностью указывающих на глубокие нарушения клеточной конституции под влиянием облучения.

Самая мысль о возможности возникновения под влиянием длительного ненормального лучевого режима ведущих к канцеризации процессов имеет поэтому достаточно веские основания.

Излучение карциногенных веществ

Еще в 1937 г. было установлено Н. Н. Канегиссер, что все испытанные карциногенные углеводороды и смолы являются излучателями, в то время как близкие по химическому составу, но не обладающие карциногенными свойствами вещества излучения не обнаруживают.

Испытаны были с положительным эффектом, кроме смол, метилхолантрен, бензирен и дибензантрицен, с пулевым результатом некарциногенные антрацен и холестерин. Тогда же было установлено, что излучение происходит лишь в присутствии атмосферного кислорода и совершенно отсутствует в водородной атмосфере. В дальнейшем мы убедились, что, кроме этого, необходим приток некоторой добавочной энергии в виде видимого, или инфракрасного, света (или нагрева приблизительно до 40°).

На основании этих данных можно с достоверностью принять, что излучение появляется в результате медленного окисления карциногенных веществ, причем удается выяснить основы энергетического баланса.

В литературе имеются лишь указания на окисление фенантрона, производной которого является бензпирен. Экзотермичность реакции соответствует приблизительно 67 ккал/моль. Эта энергия соответствует приблизительно 4 200 Å (сине-фиолетовый свет). Для большинства карциногенных веществ и, повидимому, только для них описана флюоресценция именно соответственных этому расчету и больших длин волн, а именно 4 000 Å, 4 180 Å и 4 400 Å. Вполне возможно поэтому, что мы имеем здесь дело не с флюоресценцией, но с истинной хемолуминисценцией.

Энергетический баланс представляет для нас особенный интерес, потому что спектральный состав митогенетического излучения карциногенных веществ соответствует приблизительно удвоенной энергии, освобождающейся при окислении. Карциногенные вещества обладают, таким образом, способностью суммировать два кванта энергии и высвечивать ее в виде ультрафиолетового фотона.

Карциногенное вещество	Флюоресценция в видимом свете	Митогенетический спектр
1,2-бензпирен	4 000 Å, 4 180 Å, 4 400 Å	2 020—2 060 Å, 2 180—2 220 Å
Орто-амидо-азотолуол	Отсутствует	1 960—2 000 Å, 2 000—2 020 Å, 2 180—2 200 Å
Эндогенное вещество ¹	Не обнаружена	1 990—2 030 Å, 2 180—2 220 Å

При этом сопоставлении особенную ценность приобретают результаты с ортоамидоазотолуолом. В противоположность другим карциногенным веществам его введение в организм приводит исключительно к первичному раку печени (согласно устному сообщению проф. Л. М. Шабада, иногда и легкого). При обычных условиях (наличие кислорода и видимого света) ортоамидоазотолуол не излучает. Приведенное в таблице излучение обнаруживается из эмульсии этого вещества с вытяжкой из печени, содержащей, как мы знаем, синтезин. Аналогичные результаты получены и с вытяжкой из легкого, но не из других органов.

¹ Экстракт из здоровой печени погибшего от рака желудка (любезно предоставлен проф. Л. М. Шабад).

Этот замечательный факт наводит на следующую мысль: предпосылкой для специфического действия карциногенных веществ является их излучение. Действительно, лишь в тех органах, где излучение (при содействии синтезина) возникает, может быть использована та энергия, которая выделяется при химических процессах (окислении) ортоамидаазотолуола.

Мы попытаемся проанализировать эту гипотезу во всех ее экспериментальных последствиях. Нам необходимо, однако, предварительно изучить исчерпывающим образом свойства и происхождение ракового «тушителя».

I. ВОЗНИКНОВЕНИЕ ТУШИТЕЛЯ В ПРОЦЕССЕ КАНЦЕРИЗАЦИИ

Тесная связь между наличием тушителя и опухолью, больше того, возникновение тушителя из опухоли вытекает, как нам кажется, с достаточной достоверностью из предшествующих данных. Однако лишь в самое последнее время, благодаря еще не напечатанным данным Песоченского, опирающимся на юбширный экспериментальный материал, проливается некоторый свет на возникновение тушителя по ходу процесса канцеризации. Вместе с тем нашими дальнейшими данными на основе результатов Песоченского выясняется в некоторой степени и связь между различными этапами малинизации.

При содействии и под руководством проф. Л. М. Шабада Песоченский провел обширное исследование над временем появления тушителя в крови мышей при применении различных карциногенных веществ, причем применялись как вещества, дающие почти 100% выхода (например, 9:10-диметил-2-дибензантрацен), так и менее эффективные, приводящие лишь в 30—40% к появлению опухолей (1:2:5:6-дибензантрацен).

Существенные для нас результаты автора можно сформулировать следующим образом.

1. Появление тушителя в крови на очень значительный срок, до нескольких месяцев, предшествует во всех случаях появлению опухоли.

2. При применении вещества, дающего лишь ограниченный выход, тушитель появляется лишь у тех животных, у которых впоследствии развивается опухоль.

3. В тех случаях, где необходимо многократное применение карциногенных веществ, удается добиться обратимости процесса канцеризации при своевременном прекращении применения карциногенного вещества: появившийся уже тушитель исчезает и опухоль не появляется.

Из этих чрезвычайно существенных данных автора вытекают следствия основного значения не только в практическом отношении, но и для теории канцеризации.

Вполне естественно рассматривать появление тушителя не только как первый «симптом» начинающейся малинизации, как это, повидимому, склонен считать Песоченский, но и как первый

этап процесса. Другими словами, вполне законна попытка рассматривать весь процесс малигнизации с одной общей точки зрения, т. е. как развивающийся в одном данном направлении процесс, первый ощутимый этап которого представляет появление тушителя.

Первую конкретную задачу в этом направлении можно сформулировать следующим образом.

Каков механизм возникновения тушителя под влиянием карциногенных веществ и из каких соединений он возникает?

Этот, на первый взгляд чрезвычайно запутанный и сложный феномен получил чрезвычайно простое и, как нам кажется, однозначное объяснение.

Под влиянием излучения карциногенных веществ тушитель, неотличимый по своим свойствам от ракового, может быть получен не только из белковых тел (и пептидов), но и из аминокислот (в том числе и из гликокола).

Уже давно было обнаружено, что слишком длительная экспозиция облучения растворов аминокислот приводит к их «угнетению», подразумевая под этим исчезновение последующего излучения, сводимого на окислительное дезаминирование. В настоящее время выяснилось, что это явление обусловлено образованием тушителя, подавляющего излучение. В этом можно убедиться различными приемами.

Во-первых, путем катафореза удается отогнать тушитель в анодную фракцию, после чего восстанавливается излучение основного раствора. В дальнейшем всестороннее испытание анодной фракции обнаруживает наличие всех основных свойств, характеризующих раковый тушитель: обогащение тушителя в аминокислотах, его термолабильность, отсутствие диффузии через коллоидную пленку и, что является наиболее существенным, совпадение спектров селективного рассеяния ракового тушителя и тушителя, получаемого путем облучения гликокола.

На этом чрезвычайно важном явлении мы остановимся несколько более подробно.

Гликокол, облученный до стадии появления тушителя, содержит довольно богатый набор линий в резонансном спектре, из которых в его анодной фракции сохраняются лишь некоторые.

Расшифровка этих линий приводит к чрезвычайно важным результатам, значение которых выходит, как нам кажется, далеко за пределы проблемы тушителя.

Как было уже указано в главе первой, путем селективного рассеяния удается спектрально охарактеризовать группы $R-OH$, $R=CO$, $R-C=N$, $R=NH_2$. В анодной фракции тушителя обнаружены полосы, характерные для $R-OH$ и $-C=N$. Этот факт приводит нас к следующему, как нам кажется, правдоподобному предположению.

В достаточно высокомолекулярных пептидах концевые карбоксильные группы, содержащие R—OH, отступают на задний план по сравнению с карбонильными группами пептидной связи CO—NH.

Действительно, характерные полосы R—CO обнаруживаются как в растворах белков, так и в синтезированных путем облучения из аминокислот «пептидов» (ср. главу 3).

В анодной фракции тушителей (ракового или полученного путем чрезмерного облучения гликокола) эти полосы, однако, исчезают и заменяются новыми, перечисленными нами выше. При этом следует отметить, что анодные фракции сохраняют, как мы уже знаем, общие свойства пептидов. В частности, если облучению подвергалась смесь растворов гликокола с глутаминовой кислотой, анодная фракция обнаруживает излучение при прибавлении панкреатина, что указывает на наличие пептидных связей.

Таким образом мы имеем дело с какой-то модификацией пептидов. Мы остановимся на предположении, что речь идет об энольной (лактимной) форме пептидной связи:



то этим объясняются приобретаемые при длительном облучении свойства тушителя. Так как такая модификация ведет к образованию двойной связи C=N, само собой разумеется, что и без расщепления облученных аминокислот (пептидов) на анодную и катодную фракции в их спектрах представлены обе формы пептидных связей.

Для самого механизма и кинетики образования лактимной формы не трудно выставить удовлетворительную энергетическую схему.

Поглощение молекулой аминокислоты одного фотона ультрафиолета приводит, как мы предполагаем, к отрыву одного H от аминной группы и вслед за этим к образованию обычной пептидной связи. Для того, чтобы оторвать второй водород от аминогруппы, требуется поглощение второго фотона. Сама реакция перехода кетоформы в энольную форму термонеutralна, т. е. требует лишь затраты сравнительно небольшой энергии активации.

Мы имеем, таким образом, как нам кажется, достаточные основания исходить из следующего положения.

Под влиянием введенного в организм карциногенного вещества и созданного, таким образом, непрерывного добавочного лучевого режима некоторая, повидимому, незначительная часть пептидов (белков, аминокислот) переходит в лактимную форму, что равнозначно появлению тушителя.

Перед нами возникает теперь дальнейшая проблема основной важности. Есть ли серьезные основания для предположения, что и дальнейшее воздействие карциногенных веществ сводится к их активническому воздействию и, если сделать это допущение, каков механизм малигнизации? Само собой разумеется, что в настоящее время мы вынуждены ограничиться здесь лишь чисто гипотетическими представлениями и должны выждать экспериментального подтверждения высказываемых ниже предположений, лежащего в пределах технических возможностей.

К. ГИПОТЕТИЧЕСКАЯ СХЕМА ПРОЦЕССА ДЕПОЛЯРИЗАЦИИ

Мы выдвинули в предыдущем изложении все мотивы, заставляющие придавать большое значение поверхностному клеточному фильму в определении полярных свойств клеток. Однако не следует упускать из вида, что данные спектрального анализа деградационного излучения создают впечатление, что даже при отсутствии обнаруживаемой микроскопическим путем полярности клеток она проявляется в конфигурациях (ориентировке) неравновесных молекулярных констелляций, взятых в их совокупности.

Мы будем поэтому исходить из предположения, что и процессы деполяризации захватывают как поверхностный фильм, так и внутренние слои клеточных тел.

Проводя наше представление о чисто лучистом воздействии карциногенных веществ, мы будем исходить для простоты из данных со смазыванием кожи карциногенными веществами.

Не подлежит сомнению, что мельчайшие, быть может, субмикроскопические, их частицы задерживаются в некоторых количествах в клеточных интерстициях. Описаны также мельчайшие капельки карциногенных веществ и внутри клеток.

Вполне понятно, что при таком непосредственном соприкосновении излучающего вещества с субстратом его воздействия местный лучевой режим оказывается сравнительно очень интенсивным.

При толковании результатов такого интенсивного непрерывного всестороннего облучения мы имеем, конечно, право исходить лишь из известных нам данных краткосрочных опытов и мысленно экстраполировать их на длительное воздействие.

Прежде всего следует отдать себе отчет, что в отношении любой данной клетки вероятность ее канцеризации чрезвычайно мала, так как смазыванию подвергается обычно большая площадь кожи.

Если исходить из того, что нас интересует лишь реакция герминативного слоя, и из весьма вероятного предположения, что обычно речь идет о мутации в смысле канцеризации лишь одной клетки, то вероятность такого акта для каждой клетки будет порядка миллионных или еще ниже, исходя, конечно, из того, что суммарный результат вполне достоверен, т. е. образование рака наблюдается в 100% всех случаев, или что общая вероятность для всего комплекса равна единице.

Но положение вещей чрезвычайно осложняется следующим обстоятельством. При всей конечной обеспеченности результата он возникает всегда лишь после длительного промежутка времени и повторных смазываний. Это решающее значение фактора времени влечет за собой двойное следствие.

1. Вероятность успеха возрастает, начиная от нуля, по мере нарастания числа поглощенных данной клеткой фотонов. Из этого вытекает, что, как правило, воздействие, оказанное каждым поглощенным фотоном, необратимо, т. е. оставляет какие-то следы или, другими словами, n -й фотон застаёт субстрат воздействия

уже не в том состоянии, какое было при поглощении какого-нибудь из предшествующих фотонов.

Какое-то состояние субстрата непрерывно эволюционирует при поглощении фотонов, и на известной стадии эволюции вероятность канцеризации становится настолько большой, что ввиду огромного количества статистических единиц она осуществляется практически всегда.

2. Если считать объектом воздействия фотонов в нужном нам смысле лишь герминативный слой эпителия, то необходимо прийти к выводу, что действительным, реальным объектом воздействия фотонов на протяжении всего многомесячного процесса является не один и тот же субстрат.

Действительно, если принять, что клетки герминативного слоя делятся один раз в сутки, то от первого контакта с карциногенным веществом до канцеризации мы имеем по меньшей мере 100 поколений, т. е. та клетка, которая окончательно стала раковой, является сотым поколением от первоначальной.

Те молекулы, которые входили в состав первого поколения и поэтому подвергались воздействию карциногенного вещества в течение 100 дней, составляют формально не более одной сотой молекул последнего поколения. В действительности, конечно, и эта пропорция чисто фиктивна, и от первоначальных, как бы «меченых» молекул, не осталось и следа.

Обобщая это совершенно обязательное рассуждение, мы можем сказать, что воздействию лучевого режима подвергается непрерывно сменяющийся материальный состав клеток, и поэтому необходимость и прогрессивность процесса как функции от времени требуют специального объяснения. Мы проведем вначале наш анализ, исходя из постулата деполяризации поверхностного фильма и его превращения в фильм, состоящий из своеобразных модификаций ферментов.

Мы будем основываться на достаточно обеспеченном модельными опытами положении, что фотоны поглощаются клеточной поверхностью, которую следует, по видимому, представить себе в виде монофильма из сильно поглощающих ультрафиолет органических веществ.

Ввиду этого мы будем исходить из экспериментальных данных, полученных на различных модельных монофильмах и уже изложенных подробно выше (глава IV).

В тех случаях, где испытуемое вещество обнаруживает вторичное излучение, монофильм разрушается (или по крайней мере значительно нарушается) уже в результате получасового облучения интенсивностями, которые во всяком случае не превосходят излучения карциногенных веществ. Наоборот, монофильмы из веществ, не реагирующих вторичным излучением, оказываются очень стойкими к облучению.

Объясняется это тем, что сам факт вторичного излучения уже указывает на цепные реакции, в то время как в случае стойких

монофильмов, например, для анилида стеариновой кислоты, было показано, что цепная реакция не имеет места.

Из этих данных мы можем с полным основанием заключить, что поверхностные filmy герминативных клеток эпителия непрерывно подвергаются нарушениям, которые, по крайней мере отчасти, распространяются в виде цепных реакций.

Однако последствия этих процессов сказываются, как мы видим, лишь чрезвычайно медленно и постепенно. Объяснить это можно процессами восстановления, которые в свою очередь стимулируются поглощением фотонов и также носят, хотя бы отчасти, цепной характер. Это можно заключить на основании различных модельных опытов, показывающих стимуляцию пептидного синтеза под влиянием облучения, включая и процессы обогащения ферментов.

Под влиянием непрерывного чередования или взаимодействия процессов нарушения и восстановления фильма легко представить себе постепенное изменение качественного состава элементов его строения.

Представим себе, в частности, что образовавшийся местный очаг разрушения фильма заполняется несколькими молекулами одного из внутриклеточных ферментов, которые обычно не входят в состав поверхностных фильмов нормальных клеток.

Если поглощение нового фотона этим небольшим очагом стимулирует обогащение молекул фермента, то этим актом уже кладется начало к значительной и, быть может, принципиальной перестройке поверхностного фильма. При этом преемственность процесса не нарушается тем, что его элементы, наряду с другими составными частями клеточного тела, участвуют в общем метаболизме как регрессивного, так и созидательного характера, так как вследствие цепного характера процессов обогащения и синтеза под влиянием облучения небольшой остающийся очаг может снова регенерировать.

Таким образом, не будет большой натяжкой представление о постепенной и прогрессирующей перестройке поверхностного фильма той из дочерних клеток герминативного слоя, которая по завершении акта деления остается в его составе, т. е. сохраняет способность к дальнейшему делению, в противоположность второй дочерней клетке, которая раньше или позже выйдет из состава эпителия.

Этой постепенной эволюции свойств поверхностного фильма мы должны, конечно, приписать не спорадический характер, затрагивающий лишь редкие клетки, а счесть его поголовным процессом, захватывающим, конечно, с индивидуальными колебаниями, весь ареал, подвергающийся смазыванию.

Тот факт, что этот прогрессирующий и общий для всех клеток процесс приводит лишь в крайне редких (по отношению к каждой единичной клетке) случаях к необратимому процессу, в котором мы гипотетически видим сущность канцеризации, остается незатронутым предшествующими соображениями.

Мы можем, однако, продлить наш ход мыслей, исходя из того, что местные очаги нарушения фильма являются местами самых разнообразных по своему содержанию регенерационных процессов; наряду с участками, которые заполняются молекулами ферментов, мы можем предположить и истинные регенерационные процессы, т. е. возврат к прежнему химическому составу и пространственному распределению фильма. Наряду с этим мы должны также допустить и случаи вторичного и повторного разрушения уже образовавшихся репарационных очагов, причем тот или иной ареал ферментативного состава может быть вытеснен размножением молекул, характерных для нормального фильма, и т. д.

Другими словами, мы должны признать, что постепенная эволюция поверхностного фильма идет путем непрерывной борьбы двух начал: чисто репарационных процессов и экспансии раз образовавшихся отдельных очагов из молекул ферментов, являющейся шагом по пути к образованию специфического для раковой клетки ферментативного фильма.

Вполне естественно, что завершение последнего процесса, т. е. вытеснение нормальных элементов фильма, возможно лишь в случае своеобразного перелома, дающего в дальнейшей борьбе большие шансы для распространения фильма нового, ферментативного состава, чем для чисто репарационных процессов.

Такой перелом будет для каждой клетки делом случая и статистически даже малой вероятности, и возможность такого перелома возникает вообще лишь при далеко зашедшей экспансии новых видоизменений фильма, т. е. лишь спустя продолжительное время после начала воздействия карциногенного вещества.

Таким образом, факт позднего появления результатов воздействия карциногенных веществ находит как будто удовлетворительное объяснение в наших представлениях о процессе, приводящем к формированию первого из интересующих нас характерных признаков раковой клетки — поверхностного фильма ферментативного состава.

Мы можем пойти теперь несколько дальше. Если правильно наше предположение, что полярность клетки определяется в значительной мере характером или строением поверхностного фильма, то само собой вытекает, что при полной его перестройке или, вернее, замене совершенно новым, нет оснований принимать, что полярность сохраняется.

Таким образом, образование нового монофильма, состоящего по существу из закоренных в поверхностном слое молекул различных ферментов знаменует собой одновременно и деполаризацию клетки.

Два основных элемента, которыми мы охарактеризовали раковую клетку, оказываются, таким образом, фактически объединенными по своему возникновению, и в этом и можно усмотреть некоторую степень убедительности нашей гипотезы о процессе канцеризации.

Развитие нами представления о постепенной перестройке клеточной поверхности под влиянием непрерывного облучения карциногенными веществами имеют и довольно солидную экспериментальную базу. Мы уже указывали, что отмытые составные части поверхностного фильма содержат своеобразную модификацию обычных ферментов, заряженную в противоположность норме отрицательно. В настоящее время обнаружено, что эта модификация связана с их энольной (лактимной) формой.

Можно попытаться пойти в этом направлении и дальше и допустить, что значительный сдвиг в смысле энолизации белковых тел совершается и внутри клеточного тела. Это предположение имеет основание, так как, как было уже упомянуто, накопление карциногенных веществ наблюдается и внутри клеток. Вместе с тем мы располагаем и некоторым, правда, пока ориентировочным подтверждением.

Мы увидим в дальнейшем, какое биологическое значение мы склонны придать принимаемому нами процессу энолизации клеточных белков. Предварительно необходимо выяснить некоторые чисто химические стороны затронутой нами проблемы.

Насколько можно судить по имеющимся в литературе данным, лактимная форма нормальных белковых молекул находится, повидимому, в подвижном равновесии с кетоформой, при значительном преобладании последней.

Этим данным можно в известной степени противопоставить наши результаты, касающиеся ракового тушителя: в его анодной фракции анализом селективного рассеяния кетогруппировки ($=CO$) обнаруживаются лишь при длительных экспозициях и во всяком случае значительно уступают легко обнаруживаемым лактимным группировкам. Вместе с тем нам уже давно известно, что тушитель обладает (вне организма) значительной степенью устойчивости и воспроизводится в неограниченной степени в аминокислотах. Однако в живых системах устойчивость тушителя значительно меньше, как показали особенно исследования Залкинда. Введенный в небольших количествах в организм тушитель обнаруживается в крови в течение 1—2 дней. Однако в дальнейшем он не только исчезает, но после повторного введения тушителя получается своеобразный иммунитет и, как можно показать несколько иным способом, вырабатывается, повидимому, антитушитель.

Такой же иммунитет вырабатывается при этом гораздо скорее, как показали исследования того же автора, и при прибавлении тушителя к культурам жидких дрожжей.

Эти наблюдения являются наглядной иллюстрацией развитых нами выше представлений о борьбе двух антибланных процессов по ходу постепенной малигнизации (ср. стр. 227). Вместе с тем они находятся в полном соответствии с данными Песоченского. По его наблюдениям, при преждевременном прекращении смазывания кожи карциногенными веществами уже появившийся в крови тушитель и даже намечающиеся папилломы подвергаются инволюции и исчезают.

Синтезируя все эти данные, мы можем с большой степенью вероятности остановиться на следующем.

Непрерывный усиленный лучевой режим, устанавливающийся в организме при введении карциногенного вещества, приводит к заметному сдвигу равновесия между кетонной и лактимной группировкой белковых тел (пептидов, аминокислот) в пользу последней. Лактимная форма нарастает и внутри организма путем аутокатализа, но, повидимому (как и следовало ожидать), лишь очень медленно и поэтому, если воздействие усиленного лучевого режима прекращается, восстанавливается первоначальное равновесие между обеими формами пептидных связей в пользу кетоформы.

Вместе с тем мы принимаем, что при непрекращающемся усиленном лучевом режиме продолжается обогащение лактимной формы белков (пептидов).

Мы чисто гипотетически попытаемся приписать этому процессу решающее значение в процессе канцеризации.

Для обоснования этой точки зрения необходимо снова вернуться к характеристике особенностей раковой клетки и процесса канцеризации. Положительной характеристикой раковой клетки, т. е. ее деполаризации, равнозначной с сохранением одинаковой способности к делению обеих дочерних клеток, мы можем противопоставить и утрату раковой клеткой способности к дифференцировке, т. е. к образованию более или менее устойчивых внутриклеточных (и внеклеточных) структур, преимущественно состоящих из белковых тел.

В свете современных представлений о строении молекул нативных белков можно считать установленным, что в основе таких, переходящих частью и в область микроскопически видимых структур лежат упорядоченные комплексы белковых молекул, безразлично идет ли при этом речь о глобулярных (циклольных) единицах [Ринч (Wrinch), или о «решетках», образуемых параллельными цепями пептидов, соединенных между собой поперечными «мостиками» (Эстбери). Такие мостики принимаются двух видов: «серные», т. е. связь между двумя атомами серы, принадлежащими двум соседним пептидным цепям (S—S), и водородные мостики, устанавливающиеся между O-карбонильной группы одной цепи и NH соседней. Связи в виде таких «мостиков» не имеют характера истинных химических связей, но значительно превосходят по своей прочности ван-дер-ваальсовы силы притяжения (приблизительно 12—15 против приблизительно 5 ккал).

Упорядоченное состояние белковых комплексов противопоставляется «неупорядоченному», устанавливающемуся при осторожной, обычно обратимой «денатурации» белков или, точнее, соответствующему первому этапу этого процесса [Мирский (Mirsky)]. Эта фаза денатурации ограничивается разрывом мостиков, связывающих пептидные цепи, и, как это особенно подчеркивает Лэнгмюр (Langmuir), влечет за собой полный «беспорядок» в пространственном распределении пептидных цепей (белковых моле-

кул). Лэнгмюр отмечает при этом, что денатурация белков (в частности, молекул ферментов, например, пепсина) ультрафиолетом, несмотря на ярко выраженную утрату упорядоченности, влечет за собой лишь ничтожное ослабление их биологических, в данном случае ферментативных свойств, ослабляющихся примерно на 5%¹.

Исходя из этой интерпретации денатурации (в частности, под действием ультрафиолета), мы можем, согласно развитой выше точке зрения, принять, что состояние такой денатурации (полного «беспорядка», как выражается Лэнгмюр) несовместимо с прогрессивным развитием, с дифференцировкой клетки. Этим самым мы сводим второй капитальный пункт характеристики раковой клетки на своеобразную (в сформулированном выше смысле) ее денатурацию, наступающую под влиянием непрерывного усиленного митогенетического режима.

Нам остается теперь замкнуть цепь нашей аргументации предположением, что значительное преобладание знольной формы пептидных цепей равнозначно их денатурации в понимаемом здесь смысле слова.

Действительно, довольно вероятно, что лактимная форма пептидной связи $\text{COH}=\text{N}$ двух параллельных пептидных цепей несовместима с установлением между ними водородных мостиков, осуществляющихся, повидимому, лишь между водородом иминной группы и кислородом карбонильной.

В развитой нами последовательности соображений, приводящих к унитарной концепции механизма процесса канцеризации под воздействием карциногенных веществ, мы можем констатировать как чисто эмпирические данные, так и гипотетические элементы.

Значительное преобладание знольной формы в облученных пептидах и связь между этой модификацией и свойствами «тушения» можно считать, повидимому, установленными. То же относится по крайней мере и к частичной знолизации белков (ферментов) раковой клетки (ориентировочные данные, касающиеся селективного рассеяния тканей нормальных органов и опухолей). Вероятным является предположение о связи знольной модификации белков и их «неупорядоченности», парализующей прогрессивное развитие (дифференцировку) клеточных структур. Но гипотетическим следует вместе с тем считать предположение, что знолизация плазмы раковой клетки достигает достаточно значительных размеров. Этим самым вся цепь рассуждений, приводящих к выводу, что основным этиологическим моментом канцеризации является усиление и постоянство высокой интенсивности митогенетического режима, не возвышается в данный момент над уровнем гипотезы, о степени вероятности которой можно быть различного мнения.

Мы попытаемся обосновать некоторые следствия выставленных нами гипотез и для дальнейшего, т. е. дать толкование неударж-

¹ В противоположность денатурации другими методами — нагреванием или сильным встряхиванием.

лого размножения раковой клетки после ее деполаризации. Экспериментальная база для наших соображений будет здесь незначительна.

Мы поставим себе в первую очередь вопрос: способствует ли клеточному делению полный «беспорядок» пептидных цепей, устанавливающийся согласно нашим представлениям при значительной степени энוליзации?

На первый взгляд высокая степень дифференцировки, т. е. возникновение богатых микроскопических структур митотической фигуры, стоит в явном и резком противоречии с развитым нами представлением о невозможности прогрессивного развития без упорядоченного накопления пластических белковых материалов. Но в действительности надо принять во внимание не только мимолетность существования всех структур при митозе, но, что является для нас более существенным, их выражено неравновесный характер.

Мы уже неоднократно указывали на замечательные наблюдения О. Гертвига над очень далеко заходящей (обратимой) инволюцией всей митотической фигуры при дроблении охлажденных яиц морского ежа. Аналогичные явления описаны Немецом при легком наркозе различных растительных клеток. Инволюция носит характер мелкозернистого распада великолепной ахроматической фигуры и превращения в плотные бесформенные комочки палочковидных хромосом.

Не вдаваясь в не разрешимый в настоящее время вопрос о молекулярных связях внутри самих гранул или комочков хроматина, мы должны тем не менее прийти к выводу, что во всех местах распада митотической фигуры отсутствовали истинные пептидные связи и что упорядоченность, выражавшаяся в микроскопической картине соответственных элементов, требует непрерывной затраты энергии и вмешательства клеточного поля.

Если принять, кроме того, во внимание, что во все время своего существования все элементы митотической фигуры подвергаются непрерывной прогрессивной или регрессивной эволюции, т. е. молекулярной перестройке, то следует прийти к выводу, что микроскопические картины митозов не представляют собой «структур» в обычном смысле слова, т. е. крупных упорядоченных и связанных определенных архитектурных взаимоотношений между пептидными связями молекулярных комплексов.

Мы считаем поэтому, что возникновение и существование митотической фигуры несравнимы по лежащим в основе молекулярным процессам с истинным прогрессивным, необратимым развитием, чуждым раковой клетке, и что поэтому наше основное допущение своеобразной модификации плазмы раковой клетки не встречает с этой стороны противоречий.

Нам необходимо, однако, пойти несколько дальше и поставить вопрос о сохранении длительного меристемного характера в нормальных клетках герминативного слоя физиологических меристем.

С нашей точки зрения следует ожидать и здесь того своеобразного сдвига клеточных белков в сторону энוליзации, который мы кладем в основу канцеризации. Если мы видим этиологический момент для этого сдвига в усиленном лучевом режиме раковой клетки, то он должен быть осуществлен в той или иной форме и для клеток герминативного слоя, при этом исключительно для них, не относясь к остальным элементам меристемы, например, многослойного эпителия. При этом мы должны, конечно, исходить из следующего постулата.

Источник непрерывного усиленного излучения заключен в самой раковой клетке и, повидимому, практически неиссякаем, в то время как для нормальной клетки герминативного слоя мы имеем основания принять лишь внешний источник облучения. При этом необходимо остановиться на одностороннем облучении, по существу потребляемом исключительно герминативным слоем.

Можно привести некоторое экспериментальное обоснование для такого на первый взгляд искусственного и произвольного допущения.

Наиболее резко выраженным и строго локализованным герминативным слоем является, как известно, внутренний слой эпителия мозговых пузырей и медуллярной трубки. Содержимое пузырей заполнено богатой белками жидкостью, причем удалось обнаружить, что в ней содержатся по меньшей мере два фермента — гликолитический и протеаза, о чем можно судить по митогенетическому эффекту при прибавлении продукта обогащения этой жидкости в аминокислотах к растворам глюкозы или белков. Пристеночный слой клеток мозговых пузырей находится поэтому несомненно в непрерывном и сравнительно интенсивном лучевом режиме.

Вместе с тем есть ряд указаний на то, что клеточные комплексы, находящиеся в состоянии интенсивного размножения, не реагируют на поглощение фотонов вторичным излучением.

Сопоставив эти данные, мы можем с некоторым основанием предположить, что по крайней мере для данного объекта реализуется необходимая предпосылка для столь резко обособленного поведения пристеночного слоя: непрерывный и сравнительно интенсивный односторонний митогенетический режим.

Можно ли удовлетвориться этим объяснением поведения герминативного слоя и обобщить полученные экспериментальные данные, покажут, конечно, лишь дальнейшие исследования.

Л. ТУШИТЕЛЬ

1. Определение понятия «тушение»

Выделение особого класса ингибиторов излучения, неизвестных физике и получивших название тушителей, имеет своим основанием наши представления и данные о самом механизме возникновения митогенетического излучения.

Если правильно основное положение, что весь процесс основан на двух актах, т. е. что энергия доставляется актом рекомбинации радикалов и, поглощаясь теми или иными, наличными в системе видами молекул, высвечивается ими в виде флюоресценции, то подавление излучения может явиться следствием вмешательства различных факторов.

1. Устранение возможности самой рекомбинации радикалов, так сказать, пресечение в самом корне появления свободной энергии.

2. Противодействие акту поглощения энергии способными к флюоресценции молекулами.

3. Поглощение излученных фотонов путем ударов второго рода (общеизвестное явление гашения флюоресценции сводится исключительно к последнему процессу). Первая возможность, т. е. устранение рекомбинации радикалов, в физике до сих пор не разбиралась, ввиду того что этот путь возникновения флюоресценции путем поглощения энергии химических процессов, повидимому, не принимался во внимание.

Для реализации второй из выдвинутых возможностей нельзя придумать никаких мало-мальски разумных оснований. Мы можем поэтому считаться, помимо поглощения фотонов (3), лишь с первой возможностью, и именно она, повидимому, и реализуется в тех случаях подавления, которые мы характеризуем как «тушение».

Коренное различие между тушителем и гасителем легче всего уяснить путем испытания прозрачности веществ того и другого класса. Кварцевая кюветка, заполненная соответственным раствором, ставится между источником митогенетического излучения и детектором. Гасители, представляющие собой истинные светофильтры, нацело гасят излучение, тушители оказываются совершенно прозрачными.

Мы видели также при рассмотрении вторичного излучения, что оно подавляется гасителями, но не тушителями. Этот факт особенно важен как доказательство глубоких различий фотохимических процессов при первичном и вторичном излучении.

Как и следовало ожидать, тушители не подавляют деградионного излучения, которое возникает за счет химических процессов, по времени предшествовавших моменту распада молекулярных констелляций, сопровождающегося эмиссией фотонов.

Само собой разумеется, что гаситель, как правило, перекрывает собой действие тушителя, т. е. при наличии в испытуемой системе гасителя, нельзя на основании одного лишь отсутствия излучения ни исключить, ни обнаружить наличие и тушителя. Это удается лишь применением специальных методов, о которых будет речь ниже.

2. Теория действия тушителей

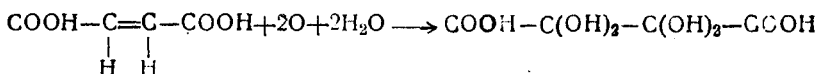
Если стать на точку зрения, что тушители проявляют свое действие, препятствуя рекомбинациям радикалов, то приходится идти и несколько дальше и остановиться на наиболее вероятном пред-

положений, что они присоединяют тот или иной из радикалов, причем теплотность этого акта присоединения сравнительно мала и поэтому не сопровождается эмиссией ультрафиолета.

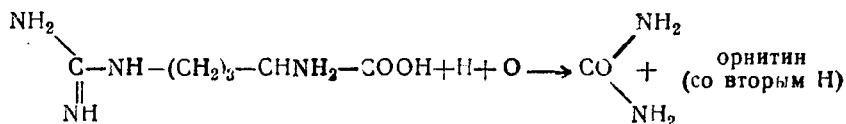
Можно предположить, что такими телами будут соединения с двойными связями, легко присоединяющими атомный водород или кислород, причем в общем энергетическом балансе надо принять во внимание и затрату энергии на разрыв двойной связи.

Исходя из этого соображения, мы испробовали с положительным результатом несколько органических соединений с различными двойными связями.

Фумаровая и малеиновая кислоты, являющиеся тушителями, хорошо укладываются в эту схему, так как при окислении по месту двойной связи фумаровая кислота превращается в виноградную:



С некоторым обоснованием можно также принять, что являющийся тушителем аргинин, присоединяя атомарные Н и С, отщепляет мочевины, подобно тому как это имеет место при его расщеплении под влиянием аргиназы на мочевины и орнитин. При этом также затрагивается двойная связь:



С другой стороны, фурфурол, выбранный также по принципу двойных связей, является акцептором кислорода в своей альдегидной группе, заменяя Н гидроксильной и превращаясь в пироксалиновую кислоту. Представление о двойной связи как решающем моменте здесь неприменимо.

Относительно ракового тушителя, химическая природа которого недостаточно выяснена, наше предположение относительно значения двойных связей удалось за последнее время обосновать экспериментальными данными¹.

Однако самый существенный момент — чисто химический характер действия тушителей (в противоположность гасителям) — находит подкрепление в том факте, что раковый тушитель потребляется при своем действии. Это обстоятельство выясняется при изучении действия ракового тушителя, который по своим общим

¹ Спектральным анализом селективного рассеяния установлена с большой степенью вероятности двойная связь C = N (ср. стр. 224).

свойствам совершенно несравним с теми довольно простыми соединениями с двойной связью, которые также обладают свойствами тушителя.

3. Тушитель раковой клетки

Мы уже знаем, что тушитель является продуктом жизнедеятельности раковой клетки и может быть получен путем отмыва от раковой опухоли физиологическим раствором.

При попытках извлечения тушителя из растертой раковой кашицы мы, как было уже упомянуто раньше, наталкивались на некоторые затруднения: его деятельность подавляется своеобразным гермолабильным телом, содержащимся, по видимому, во внутренних слоях раковой клетки и не проникающим в поверхностный фильм, к которому принадлежит тушитель.

Тушитель может быть также получен из вытяжек большинства органов больного раком организма (Залкинд и Новиков) и из крови. Мы остановимся несколько подробнее на методе его выделения из крови. Гемолизированная кровь осаждается приблизительно равным объемом 96° алкоголя и после образования крупных сгустков фильтруется. Фильтрат высушивается при температуре, не превышающей 37°. Образовавшийся осадок растворяется в количестве воды, соответствующем объему взятой крови, и отцентрифугируется. Слегка опалесцирующая жидкость содержит еще заметные количества белка, который оседает обычно при длительном электрофорезе.

Более удобный способ очистки тушителя (помимо метода «переносов», о котором речь в дальнейшем) основан на его замечательном свойстве связываться с кристаллами поваренной соли.

Если по возможности, но, конечно, не вполне очищенный от белков водный раствор высушивать в плоских чашках, обыкновенно образуются небольшие правильные кристаллы хлористого натрия, с которыми связан практически весь тушитель. Одного такого кристаллика с длиной ребра 1,5—2 мм вполне достаточно для полного тушения 3—4 см³ излучающей ферментативной смеси.

Растворы таких кристаллов можно подвергать диализу через коллоидные пленки, непроницаемые для тушителя. Высушенное содержимое мешочка дает тушитель в концентрированном виде, однако нет никаких оснований считать, что мы получаем его в действительно чистом виде, т. е. как вполне однородное химически тело, которое было бы целесообразно подвергнуть химическому анализу.

Тушитель можно получить в сравнительно чистом виде и иным способом, а именно путем «переносов». Этому явлению мы коснемся подробно в дальнейшем.

Получение концентрированного тушителя в количествах, достаточных для его очистки обычными препаративными методами химии, представляет очень большие, чисто технические затруднения, и этот важный шаг в его изучении остается до сего времени невыполнен-

ным. Поэтому мы можем составить себе некоторое представление о его химических свойствах лишь косвенным образом.

4. Физико-химические свойства тушителя

Полученный любым методом свободный от белков (например, в переносах высоких порядков) тушитель обнаруживает свойства высокомолекулярного тела, а именно неспособность диффундировать через коллоидную пленку и термолабильность: нагрев в течение нескольких минут до 70—80° нацело снимает характерную способность к тушению.

Физико-химическая характеристика тушителя дополняется его отрицательным электрическим зарядом, сохраняющимся в очень широком диапазоне концентрации водородных ионов. Из этого можно с довольно большой степенью вероятности заключить, что он не является амфотерным соединением. Хотя тушитель при обычных условиях не диффундирует через коллоидную пленку, при наложении тока удается его электроосмос. Из этого можно заключить, что его молекула имеет в общем нитевидную форму, вследствие которой она устанавливается своей длинной осью по направлению тока и при этом условии проходит через поры коллоидной пленки. Ее длина, по видимому, порядка 20—30 Å.

Высокой молекулярностью тушителя объясняются и особенности его воздействия на клетки. Излучающие ткани, например, корешки или эпителий роговицы, погруженные в растворы тушителя, не утрачивают своего излучения даже после длительного пребывания в нем. Однако при пропускании слабых токов (порядка несколько миллиампер), причем корешок (или голова лягушки) является анодом, а раствор тушителя — катодом, почти мгновенно по установлении тока исчезает и излучение.

Тушитель обладает довольно значительной стойкостью. В высушенной при комнатной температуре крови он сохраняется в своей полной интенсивности по крайней мере 5 дней.

Способность тушителя к обогатщению в аминокислотах, обнаруженная и для ряда ферментов, сближает до известной степени обе группы веществ и послужила основанием для попытки выделить активную группу из большой молекулы нативного тушителя.

Выделение ее удастся чрезвычайно просто путем осторожного гидролиза соляной кислотой.

Раствор тушителя (обычно перенос его в 0,5% гликоколе) подвергается воздействию нормального раствора соляной кислоты (2 п — раствор пополам с раствором тушителя) в течение 1—2 суток при температуре около 37°. Смесь осторожно высушивается в плоских чашках; при той же температуре осадок растворяется в небольшом количестве воды и обычно доводится до нейтральной реакции прибавлением бикарбоната.

Полученный таким образом раствор обладает в полной мере способностью тушения, но в противоположность нативному тушителю утрачивает все свойства высокомолекулярного вещества: «гидроли-

зованный» тушитель вполне термостабилен, выдерживает кипячение и чрезвычайно легко диффундирует. Он не обнаруживает электрического заряда и не обладает способностью обогащения за счет аминокислот.

В противоположность нативному тушителю он чрезвычайно быстро проникает в живые ткани и нацело подавляет их излучение.

Мы имеем поэтому полное основание предположить, что активная группа тушителя имеет сравнительно простое строение, сравнимое, быть может, с другими органическими тушителями.

По исследованиям последнего времени можно с большой степенью вероятности принять, что активная группа тушителя содержит пептид (или состоит из пептида) с лактимной группировкой



Остается, однако, совершенно неясным строение той части молекулы тушителя, которая отщепляется (по всей вероятности, гидролизуется) соляной кислотой. Некоторые предположения можно высказать лишь на основании явлений обогащения, к анализу которых мы теперь и подходим.

5. Обогащение тушителя за счет аминокислот

Процесс обогащения тушителя в аминокислотах внешне аналогичен обогащению ряда ферментов, но обнаруживает при этом ряд далеко идущих, до сих пор еще не разгаданных отличий.

Кинетика процесса обогащения тушителя изучена с достаточной подробностью.

К источнику излучения (например, жидкой дрожжевой культуре) прибавляется отмеренное количество «переноса» тушителя в растворе аминокислоты и испытывается излучение культуры. Такие прибавления совершаются через определенные промежутки времени после смешения тушителя с раствором аминокислоты. Полный эффект тушения достигается лишь в случае прибавления смеси тушителя с аминокислотой двадцатиминутной давности. Мы приводим в виде примера протокол одной серии.

Возраст переноса тушителя в минутах	0	6—8	12—16	20—24
Излучение дрожжевой культуры в %	82	40	21	7

Значительного увеличения концентрации можно достигнуть путем повторной адсорбции тушителя на каолин (ср. главу 3) и его последующего отмыва слабо щелочным раствором. Для приготовления гидролизованного тушителя обычно пользуются подобными элюатами.

По сравнению с процессами обогащения ферментов обогащение тушителя обнаруживает две важные особенности:

1) во время самого процесса обогащения не возникает излучения;

2) обогащение совершается и в полной темноте, но лишь в аэробной среде (Г. Семенов).

Если вспомнить наши основные положения о механизме действия тушителя, то мы можем составить себе следующую картину.

Тушитель, действуя в этом отношении наподобие ферментов, совершает первый акт обогащения, т. е. расщепляет некоторое количество молекул аминокислоты на радикалы.

Второй акт — синтез новых молекул тушителя из радикалов — должен быть несколько своеобразным в силу самой природы тушителя: по крайней мере некоторые категории радикалов непосредственно присоединяются к тушителю.

Остается при этом неясным, совершается ли аналогичный процесс и при обогащении ферментов, так как акт ресинтеза пока не поддается анализу. Но во всяком случае общий ход этого процесса должен существенно отличаться здесь и там, так как при обогащении ферментов необходимо участие двух фотонов видимого света, обогащение же тушителя совершается и в темноте.

При попытке обобщения этих двух разновидностей основного процесса целесообразно, конечно, исходить из более простого, т. е. идущего с меньшей затратой энергии.

Первый акт — расщепление молекулы гликокола на радикалы — требует очень большой затраты энергии, которая компенсируется отчасти новыми рекомбинациями радикалов по ходу синтеза и, в случае ферментов — двумя фотонами видимого света, в случае тушителя — участием кислорода, который, как мы видели, не нужен при обогащении ферментов.

Для того чтобы компенсировать выпадение энергии двух фотонов, равной приблизительно 130 ккал, использование атмосферного кислорода при синтезе тушителя должно совершаться таким путем, чтобы покрылись не только эти 130 ккал, но и добавочная затрата на расщепление молекулы кислорода (O_2) на два атома, требующее затраты 118 ккал. Такая значительная затрата энергии может быть покрыта лишь одним способом — соединением атомного кислорода с атомным углеродом или с карбонильной группой, т. е. реакцией, дающей около 167 ккал. Однако высказаться более определенно по этому вопросу в настоящее время еще невозможно.

6. Предпосылки и механизм действия ракового тушителя

Проявление тушащего действия нативного (т. е. не гидролизованного) ракового тушителя связано с некоторыми специальными условиями.

При воздействии на излучение ферментативных систем решающее значение имеет заряд молекулы тушителя.

Так как и ферменты обыкновенно несут тот или иной заряд, то при условии их одноименности в ферменте и тушителе их взаимное приближение до пределов, необходимых для химических реак-

ций, конечно, исключается, так как при кратковременности жизни свободных радикалов, являющихся собственно объектами воздействия тушителя, вероятность застать их в свободном виде далеко от молекулы фермента исчезающе мала.

Опыт вполне подтвердил на разнообразных объектах правильность этих соображений. Особый интерес представляет при этом поведение ферментов крови — гликолитического, протеазы и фосфатазы.

При достаточно длительном катафорезе гемолизированной нормальной крови (или еще удобнее — любого переноса крови) в U-образной трубке наличие этих ферментов может быть обнаружено путем митогенетического анализа исключительно в катодной фракции, что указывает на положительный заряд этих ферментов.

При тех же обстоятельствах в раковой крови (или ее переносах) ферменты обнаруживаются как на аноде, так и на катоде (но не в средней части).

	Нормальная кровь			Раковая кровь		
	Анод	Катод	Средина	Анод	Катод	Средина
Гликолиз . . .	1,5%	34%	2%	27%	5%	3%
Протеаза . . .	0	48%	7%	51%	54%	5%

В полном соответствии с этими данными находится и отношение тушителя к катодной и анодной фракции раковой крови.

При прибавлении соответственных субстратов и тушителя к той или иной фракции обнаруживается тушение катодной фракцией и полное отсутствие тушения анодной.

Раз характерные для рака ферменты крови с отрицательным зарядом иммунны относительно тушителя, то, естественно, возникает вопрос: почему подавлено излучение самой раковой крови, и, в более общей форме, как может вообще проявляться тушащее действие раковой крови или переносов, в которых налицо также и обогащенные ферменты с отрицательным зарядом?

Объяснением этого на первый взгляд парадоксального явления служит предположение, что соответственные ферменты представлены в столь малой концентрации, что при обычных методах испытания тушащего действия раковой крови их деятельность не проявляется надпороговыми интенсивностями излучения.

Это предположение вполне подтверждается экспериментальными данными, которые показывают, что при определенных разведениях раковой крови (или переносов) тушитель перекрывает своим угнетающим действием на основной источник излучения то крайне слабое излучение, которое возникает одновременно под действием иммунных по отношению к нему, характерных для рака ферментов.

Но при больших концентрациях последнее уже дает себя знать.

Эти взаимоотношения объясняют тот факт, что, например, тушащее действие гемолизированной раковой крови на ферментативные источники (например, глюкоза + зимаза) проявляется в полной мере при прибавлении одной капли на 1 мл ферментативной систе-

мы, но уже становится неясным при двух каплях и совершенно исчезает при трех каплях.

Не менее наглядна в том же смысле и другая комбинация.

В источнике излучения, являющемся в то же время средой обогащения и ферментов, и тушителя, немедленно по прибавлении подходящего количества раковой крови исчезает излучение. Однако оно возобновляется снова по истечении некоторого времени (около получаса) вследствие того, что за это время размножились и иммунные к тушителю ферменты. Что это именно так, вытекает из второго этапа опыта: к свежему источнику излучения прибавляется некоторое количество той же смеси, в которой уже возникло снова излучение, т. е. тем самым разбавляется концентрация и тушителя, и раковых ферментов. Вследствие этого снова наблюдается полное угнетение излучения, которое, однако, снова появляется по прошествии приблизительно получаса.

Источник излучения—облученная предварительно глютаминовая кислота

До прибавления раковой крови	Непосредственно через 30 минут (после прибавления крови)	Новое прибавление	Через 30 минут
31%	6% 38%	8%	80%

Мы видим, что решающим фактором для достижения тушения обычного источника излучения является не только концентрация тушителя, но и достаточно слабая концентрация иммунных к нему ферментов.

Решающее значение для действия тушителя знака заряда соответственного фермента выясняется из ряда опытов.

Так, например, обстоит дело с уреазой.

Нативная, неочищенная уреазы, связанная, повидимому, с белковой частицей, несущей положительный заряд, подвергается в полной мере действию тушителя. Однако при достаточно длительном катафорезе у анода обнаруживается фракция уреазы, вполне активная в химическом отношении (повидимому, отделившаяся от рыхлой связи с белковой частицей под влиянием тока).

Воздействие тушителя на эту фракцию уреазы не обнаруживается, но в то же время прибавление к этой смеси вместо гликокола мочевины обнаруживает полное действие тушителя.

Крепкая уреазы—1,0+тушитель—2,0+H₂O—7,0 прибавляется к облученному раствору гликокола немедленно по изготовлении смеси. Излучение всей системы равно 0.

То же, но при прибавлении гликокола через 6 минут по изготовлении смеси—излучение 72%.

Предпосылкой действия тушителя на излучение при ферментативных реакциях является его «заякорение» на молекуле фермента. Этот процесс совершается не мгновенно, а, повидимому, в течение 1—2 минут. Выразением его служит тот факт, что при смешении тушителя с одним каким-либо ферментом прибавление второй ферментативной системы приводит к подавлению ее излу-

чения лишь в том случае, если оно произойдет в течение первых нескольких минут после смешения тушителя с первым ферментом:

Так, например, обстоит дело в том случае, если к смеси из крепкой уреазы и тушителя немедленно прибавить излучающий (т. е. предварительно облученный) гликокол: излучение последнего нацело подавляется. Но если гликокол прибавлен через 5—6 минут после приготовления смеси уреазы + тушитель, то никакого влияния на излучение гликокола уже не обнаруживается.

Связанный с молекулой фермента тушитель сохраняет свою полную активность относительно системы — данный фермент + субстрат — по крайней мере в течение 1½ часов. Другими словами, полный эффект наступает и при прибавлении субстрата лишь через этот промежуток времени.

Истощение тушителя при его действии является, как мы видели, особенно важным доказательством чисто химического характера акта тушения, конечно, в полной противоположности с актом гашения. Обнаружить истощение удастся следующим простым опытом.

Крепкая уреазы смешивается с тушителем и с 0,5% мочевиной и испытывается через 1—1½ часа. При этом констатируется нормальное излучение системы.

Из сопоставления этих данных можно вывести с достоверностью, что тушитель более или менее нацело затрачивается в процессе работы, в то время как его длительная связанность с молекулой фермента, но без прибавления субстрата несколько не изменяет его свойств.

ГЛАВА ДЕСЯТАЯ

ПОДАВЛЕНИЕ ИЗЛУЧЕНИЯ КАК ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ МЕТОД. ТУШИТЕЛИ И ГАСИТЕЛИ

А. МИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ РЕЖИМ КРОВИ

Митогенетический режим крови является чрезвычайно чувствительным индикатором на некоторые физиологические и патологические состояния организма и наряду с этим не обнаруживает отклонения в ряде других очень тяжелых патологических процессов.

Исследование спектрального состава излучения крови приводит к ценным результатам лишь в немногих случаях. В общей форме толкование результатов спектрального анализа не может быть однозначным, так как, как мы уже видели, наличие полос, характерных для того или иного спектра эталона, не указывает на наличие того или иного процесса. Изменение митогенетического режима крови мы понимаем поэтому в настоящее время лишь в довольно ограниченном смысле — как ослабление или даже полное подавление излучения, проявляющееся в целом ряде состояний, или как его усиление, обнаруженное до сих пор с достоверностью.

лишь при состояниях маниакального возбуждения (Брайнес) и, по-видимому, при беременности.

Диагностическое значение эти явления приобретают в силу того обстоятельства, что во всех случаях исчезновения излучения крови в ней удается обнаружить подавляющее начало, оказывающее еще в сильных разбавлениях соответственное влияние и на любой другой источник излучения.

При сравнительном изучении различных случаев мы обнаруживаем как наличие тушителей, так и гасителей. Реальный интерес в настоящее время представляет лишь вопрос о возможности отграничения «ракового тушителя» от всех остальных возможностей подавления излучения в крови.

Этот вопрос можно считать в настоящее время решенным в положительном смысле. До сих пор не найден в организме тушитель, который бы обладал совокупностью всех свойств, обнаруженных нами на «раковом» тушителе, и так как между этими отдельными свойствами не видно непосредственной связи, то мала вероятность, что все они встретятся и в каком-нибудь ином веществе. Однако исключить такую возможность никак нельзя.

В. ОБЩЕЕ ПОНЯТИЕ О ГАСИТЕЛЯХ И ИХ КЛАССИФИКАЦИЯ

Гасителями мы называем (в противоположность тушителям) фильтр для ультрафиолета. В соответствии с этим подавление излучения происходит в равной мере и при смешении гасителя с излучающим раствором, и при использовании раствора гасителя в кварцевой кюветке, расположенной между источником излучения и детектором.

Вместе с тем гасители (в противоположность тушителям) в одинаковой мере подавляют и первичное, и так называемое вторичное излучение. Как всякий светофильтр, гасители распространяют свое действие только на определенный, в большинстве случаев, правда, очень широкий, диапазон ультрафиолета.

Практически важные для наших диагностических целей гасители, по-видимому, являются фильтрами для всей митогенетической области. Однако уже в настоящее время обнаружены гасители (продукт расщепления глюкозы, стрептоцид), распространяющие свое действие лишь на коротковолновую половину митогенетической области.

Известные нам до сих пор гасители разделяются на две группы: продукты физиологического или патологического обмена веществ и посторонние организмам вещества — большей частью фармакологические препараты.

В первой группе мы должны в свою очередь различать химически сравнительно простые и определяемые вещества от продуктов патологического обмена, природа которых остается совершенно неизвестной.

1. Эндогенные гасители

Наиболее простые по своему строению гасители появляются при диабете и желтухе различного происхождения: в первом случае речь идет, повидимому, об ацетоне (или иных продуктах патологического обмена), во втором случае остается пока невыясненным, принадлежит ли роль гасителей желчным пигментам или желчным кислотам (или тем и другим). Гасящая способность крови при этих заболеваниях обычно довольно значительна: гасящее действие исчезает обыкновенно лишь при многократном разведении обычной гемолизированной крови (предполагая прибавление одной капли на 1 см³ источника излучения).

Чрезвычайно важное практическое значение им гаситель, появляющийся всегда при септических и довольно часто при хронических гнойных заболеваниях (особенно при затечных абсцессах туберкулезного происхождения).

К эндогенным гасителям относится также вещество (или вещества), возникающее в крови здоровых индивидуумов после достаточно продолжительного физического напряжения, открытое Брайнесом. Наиболее интересным является открытый Брайнесом гаситель, появляющийся в крови при депрессивных формах психозов.

В дальнейшем было обнаружено (А. А. Гурвич), что при введении животным в кровь гистамина или аргинина — веществ, вызывающих каталептические припадки, в крови немедленно появляется и гаситель. Последний может быть получен и вне организма, при прибавлении к растворам этих веществ небольших количеств крови. Из этого вытекает, что гаситель является продуктом каких-то изменений гистамина или аргинина или их реакций с составными частями крови.

Конечно, вполне возможно, что при ряде других физиологических и патологических процессов возникают не обнаруженные еще до сих пор гасители.

2. Гасители экзогенного происхождения

Разнообразие экзогенных гасителей уже в настоящее время довольно велико, и вряд ли можно сомневаться в том, что их список еще далеко не исчерпан.

Целый ряд фармакологически важных веществ является сильными гасителями: мышьяк, йод, хинин, пантопон, морфин, новокаин.

Наиболее детально и тщательно проведено исследование йода (в форме иодистого калия) и пантопона (Орлова). Мы приводим несколько данных из ее еще не опубликованной работы.

При кормлении кроликов иодистым калием в малых (соответственных терапевтическим) дозах кровь уже на 3—4-й день приобретает гасящие свойства, сохраняющиеся довольно долго после прекращения введения йода в случае, если он вводился достаточно продолжительное время.

Наибольший интерес представляет активное гасящее начало пантопона. Речь идет, повидимому, о каком-то ферментоподобном веществе, сохраняющемся при изготовлении пантопона из млечного сока мака без применения высоких температур. В противоположность всем остальным известным гасителям гасящее начало крови после повторного введения терапевтических доз пантопона способно обогащаться, подобно тушителю, в растворах аминокислот и вместе с тем термолabile. Совпадение его свойств со свойствами ракового тушителя заходит еще дальше, так как активное начало пантопона, подобно тушителю, несет отрицательный заряд и адсорбируется на кристаллах хлористого натрия.

Единственным известным нам пока способом дифференциального диагноза между этими двумя типами является самый процесс обогащения в аминокислотах. Активное начало пантопона обогащается только на свету, раковый тушитель — и в полной темноте. В последнем отношении он отличается, как уже указывалось, по поведению и от истинных ферментов.

3. Способы дифференциации тушителя и гасителей

Практика показала, что в некотором проценте подвергающихся исследованию подозрительных в смысле рака случаев установление точного диагноза возможно лишь при условии достаточно разностороннего обследования свойств крови.

Так как эти вспомогательные приемы довольно кропотливы и отнимают много времени, то желательно до исследования возможно полное ознакомление с историей болезни, чтобы установить с достоверностью следующие приходящие обстоятельства:

1. Есть ли в данном случае, кроме подозрения на новообразование, данные, указывающие на какой-нибудь гнойный или хронический септический процесс?

2. Какие, в каком количестве и когда давались лекарственные вещества, применялось ли лечение рентгеном или радием?

3. В случае наличия опухоли по возможности точные сведения о ритме ее течения.

В первых двух случаях необходимо принимать во внимание наличие самых различных гасителей, в третьем мы должны считаться с возможностью, что при очень вялом течении рака (например, при скирре) организм вырабатывает антитушитель, который может замаскировать одновременное наличие тушителя. Верный диагноз возможен, конечно, и при этих случаях.

Если речь идет о совершенно не осложненном случае, особенно частом в практике, т. е. об индивидууме с очень легкими жалобами, не принимающем никаких лекарств, вся процедура установления наличия тушителя или его отрицания крайне проста.

Выбор наиболее подходящего источника излучения является чрезвычайно важным.

Раковый тушитель действует на все до сих пор испытанные химические (особенно ферментативные) источники излучения. Однако при выборе источника необходимо иметь в виду, что как в самой раковой крови, так и в переносах,

кроме тушителя, представлен и ряд ферментов с отрицательным зарядом, иммунных по отношению к тушителю. Для диагностических целей крайне благоприятно то обстоятельство, что тушитель, как правило, проявляет себя уже в таких ничтожных концентрациях, при которых действие ферментов на соответственные субстраты еще не обнаруживается. Однако малейший избыток в количестве применяемой гемолизированной крови (или переноса) может повести к ложному заключению в тех случаях, если источник излучения содержит субстрат, адекватный для данных ферментов. К этой категории принадлежат три наиболее доступных и удобных источника: кровь нормального индивидуума, белок + пепсин, нуклеиновая кислота (или лецитин) + кашлица из печени и культуры дрожжей в сусле.

Рядом опытов, выполненных в нашей лаборатории (Романцов), было в свое время показано, что при определенной концентрации гемолизированной раковой крови, прибавленной к нормальной (излучающей) крови, эффект тушения не обнаруживается при прибавлении одной капли из 2 мл, был ясно выражен при прибавлении двух капель, становился сомнительным при трех каплях и исчезал снова при большем их количестве. Не подлежит сомнению, что в первом случае была слишком мала концентрация тушителя, а в последнем слишком велика концентрация иммунных раковых ферментов.

Ввиду ненадежности дозировки раковой крови применение в качестве источников перечисленных реактивных систем мало целесообразно, и, если оно безусловно необходимо, требует применения только что описанных серийных опытов.

Наиболее удобным и надежным источником излучения при испытании тушащих свойств крови является облученная предварительно аминокислота (проще всего раствор гликокола).

Как мы уже знаем (ср. главу 3), после облучения раствора аминокислоты он в течение многих часов испускает излучение, основанное на окислительном дезаминировании.

В гемолизированной крови, по крайней мере при применяемых нами концентрациях, не содержится ферментов, для которых аминокислоты являлись бы адекватными субстратами. Поэтому действие тушителя может проявляться при любой (достаточной) его концентрации.

Для имеющейся в виду цели достаточен 0,5% раствор гликокола.

Основным и самым простым средством дифференцирования тушения (т. е. наличия ракового тушителя) от гашения является испытание термоустойчивости тушащего начала. Мы уже видели, что, за исключением пантопона, все известные нам гасители термостабильны, т. е. не утрачивают своих свойств при кипячении, как это имеет место для тушителя раковой крови.

Так как гемолизированная кровь при кипячении свертывается, рекомендуется во всех случаях применять по крайней мере второй перенос исследуемой крови в аминокислоте.

Простейшая схема исследования сводится, таким образом, к следующим трем этапам:

- 1) испытание излучения облученного раствора гликокола;
- 2) испытание излучения другой порции того же раствора с прибавлением второго переноса испытываемой крови в отношении 1 : 10;
- 3) повторение (2), с той лишь разницей, что перенос предварительно подвергается кратковременному кипячению.

Возможны три варианта результатов: растворы (2) и (3) в равной мере прозрачны, т. е. не снижают излучения гликокола. Диагноз: если есть возможность исключить очень вяло растущую опухоль (ср. стр. 246), наличие рака отрицается. Раствор (2) обнаруживает тушение, раствор (3) дает полное восстановление излучения. Если можно с уверенностью исключить приемы пантопона, диагноз: рак.

Подавление излучения и при (2), и при (3). Этот случай представляет наибольшую сложность для диагноза и требует применения вспомогательных исследований. Предварительный диагноз: несомненный гаситель, но возможен одновременно и тушитель.

Мы видим, что во всех трех вариантах есть известные оговорки, которые как будто несколько ослабляют полную однозначность результатов, т. е. достоверность диагноза.

Однако все перечисленные оговорки вполне выяснимы, а следовательно, и устранимы путем соответствующих доброкачественных опытов.

Практически является излишним пускаться во всех случаях в ход полный арсенал возможных вариантов. Так, например, если речь идет о подозрении на самое начало канцеризации (например, при клинической вполне доброкачественной эрозии), вряд ли есть основания опасаться наличия антитушителя (оговорка первого варианта). Однако и однозначное решение этого сомнения очень просто: насколько до сих пор выяснено, антитушитель заряжен положительно (тушитель — отрицательно) и не обогащается за счет аминокислот. Поэтому или путем катафореза, или путем повторных переносов, которые для антитушителя являются простыми разбавлениями, можно всегда освободить тушитель от мешающего воздействия антитушителя.

Второй вариант, почти с уверенностью указывающий на наличие рака, может быть затемнен предшествовавшей пантопоновой терапией. Устранение ошибки здесь возможно путем проведения переносов в аминокислотах в полной темноте. Обогащение гасящего начала, содержащегося в пантопоне, совершается только на свету.

Здесь возможно, однако, еще одно привходящее, правда, очень редкое или даже скорее мыслимое, обстоятельство при наличии наряду с опухолью и гнойного процесса с термолабильным гасителем. В этом случае решающим фактором будет сохранение подавления излучения при высоких переносах, т. е. сильных разбавлениях гасителя.

В третьем варианте — подавления излучения и после кипячения испытуемого переноса — необходимо продолжать переносы до выяснения одной из двух возможностей.

1. Перенос *л* степеней вообще утрачивает способность подавлять излучение как в не кипяченом, так и в кипяченом виде. Диагноз — наличие сильно концентрированного гасителя, но отсутствие тушителя, т. е. новообразования.

2. Перенос сохраняет способность подавлять излучение только в некипяченом виде. Диагноз: злокачественное новообразование.

При особенно запутанных случаях (комбинация опухоли, гасителя эндогенного происхождения, фармакологических препаратов) в резерве остается еще применение катафореза с последующим прибавлением к анодной фракции небольшого количества хлористого натрия и высушиванием при температуре не выше 37°. Кроме пантопона, до сих пор не обнаружено ни одного вещества с отрицательным зарядом и адсорбцией на кристаллах хлористого натрия, обладающего свойствами гасителя. В случае возможности предшествовавшего применения пантопона остается последний, решающий прием — обогащение кристаллов с подавляющим, спорным началом в темноте.

Мы постарались возможно исчерпывающим образом осветить все могущие возникнуть при испытании тушения трудности и методы их устранения. Однако необходимо указать, что более ранняя статистика, когда не принимались во внимание все перечисленные предосторожности и исследование ограничивалось испытанием тушащей способности гемоллизированной крови или 2—3-го переноса, уже давала благоприятные результаты расхождения, т. е. ошибки в диагнозе не превышали 5%.

Однако на этом нельзя остановиться, раз мы стоим на точке зрения, что имеем дело не с простым симптомом, а с проявлением одного из основных свойств раковой клетки. Действительно, в имеющейся в настоящее время в нашем распоряжении статистике из 3—4 источников, при которой принимались во внимание все перечисленные возможности, неудачи до сих пор не были зарегистрированы.

Но само собой разумеется, что раньше чем убедиться в том, что неудачи практически невозможны, необходимо располагать клиническим материалом, который может быть собран лишь на протяжении нескольких лет¹.

С. ГАСИТЕЛЬ ПРИ СЕПТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Наличие гасителя при гнойных очагах хронического характера было обнаружено при нескольких ошибочных диагнозах на злокачественные новообразования (Еремеев, Залкин). Вскоре удалось, как уже указывалось раньше, установить вполне достоверный

¹ Новейшие основанные на обширном клиническом и экспериментальном материале данные Песоченского несколько сдвигают положение вопроса о практической (клинической) ценности метода «тушения». Вполне подтверждая специфичность реакции для процессов малигнизации, автор считает, что появление тушителя представляет настолько раннее явление, что может соответствовать и «предраковым» состояниям, т. е. подготовительным к малигнизации процессам, «относительно не предвешая вопроса о времени появления опухоли». Таким образом, по мнению автора, «наибольшую ценность феномен тушения имеет не при решении вопроса: рак или не рак, а для выявления и своевременного направления на соответствующее лечение больных с предраковыми состояниями».

дифференциальный диагноз между «тушителями» и «гасителями», основанный главным образом на том, что под последними подразумеваются светофильтры, поглощающие ультрафиолет по пути от источника излучения к детектору; тушители же, как вытекает из всего предыдущего, подавляют излучение путем связывания тех или иных возникающих при различных химических реакциях радикалов, но не обладают характером светофильтров.

Связь специфических гасителей с инфекциями была выяснена несколькими этапами.

Гаситель обнаружен в отмыках различных патогенных микроорганизмов Глуховцевым (неопубликованные данные). В дальнейшем эти опыты были повторены на различных видах патогенных микроорганизмов и сапрофитов, при этом гаситель обнаружен лишь в первой группе и его концентрация оказалась, насколько можно было судить по недостаточным еще данным, в соответствии с вирулентностью данного вида и штамма (стрептококк, два вида стафилококка, кишечная палочка). Следующим этапом исследования было обнаружение гасителя в крови животных после искусственного инфицирования их отмывом той или иной культуры. И здесь обнаружился выраженный параллелизм между вирулентностью данного штамма и временем появления и концентрацией гасителя в крови.

В дальнейшем были проведены исследования на клиническом материале, в частности, при раневых инфекциях.

Оценка полученных при этом результатов, конечно, значительно труднее, чем при диагнозе злокачественных новообразований, где речь идет об однозначном ответе — наличии или отсутствии опухоли. Практический интерес применения гасителя заключается в оценке тяжести инфекции, понятия, конечно, довольно неопределенного по своей сущности. Тем не менее из сопоставления ряда клинических данных¹ с концентрацией обнаруженного в крови гасителя удалось установить некую эмпирическую шкалу, дющую, судя по дальнейшим испытаниям, удовлетворительные клинические результаты. Не подлежит во всяком случае сомнению, что существует строгий параллелизм между тяжестью инфекции и концентрацией гасителя в крови².

¹ Из клиники доц. М. М. Шалагина в Казани.

² Разработанная нами методика чрезвычайно проста: 1 см³ пропитанной кровью и высушенной фильтровальной бумаги отмачивается в течение 10 минут в 1 см³ дистиллированной воды и из этого раствора первоначальной концентрации производится разбавления в 100 раз, обозначаемые в дальнейшем четными отрицательными индексами степени от 10, например 10⁻² ... 10⁻⁸ ... Ряд таких разбавлений испытывается в качестве светофильтров и отмечается то первое разведение, которое оказывается прозрачным. Раствором заполняется кварцевая кюветка, устанавливаемая между источником излучения и дрожжевым детектором. Может быть использован и более простой метод, позволяющий обойтись совершенно без кварца.

Стекло, как известно, довольно значительно отражает ультрафиолет. Этот факт может быть использован следующим образом. В плоский стеклянный сосуд наливается слой воды в 5 мм вышины, и на расстоянии приблизительно 2—3 см устанавливается дрожжевой детектор горизонтально, дрожжевым

При исследовании большой серии раневых инфекций различной степени тяжести выяснился громадный диапазон концентрации гасителя от 10^{-2} до 10^{-14} . При этом можно с большой степенью надежности установить следующее.

В случаях, где разведение 10^{-6} уже прозрачно, можно, повидимому, исключить генерализацию процесса: речь может быть лишь о местных воспалительных (гнойных) очагах. От 10^{-6} до 10^{-10} степень инфекции можно оценить как среднюю, конечно, возрастающую по мере повышения индекса тяжести. Показатели 10^{-12} до 10^{-14} обнаруживаются лишь при тяжелых инфекциях с серьезным прогнозом.

При хроническом течении септических процессов колебания концентрации гасителя обычно предшествуют колебаниям процесса и поэтому являются, повидимому, довольно надежным прогностическим признаком.

Принципиальная пригодность метода может, повидимому, считаться установленной. Однако само собой разумеется, что практическая его ценность могла бы быть выяснена лишь при дальнейшем обследовании очень обширного и разнообразного клинического материала.

С феноменом гашения связан, конечно, ряд чрезвычайно важных и интересных теоретических вопросов.

На основании данных, полученных с чистыми культурами и при заражениях ими животных, можно с уверенностью сказать, что гаситель является продуктом жизнедеятельности бактериальных клеток. Но напрашивающийся сам по себе вопрос о специфичности гасителя в зависимости от вида микроорганизмов пока еще не подвергался исследованию. Спектральный анализ сможет, должно быть, внести некоторую ясность в этот вопрос.

ГЛАВА ОДИННАДЦАТАЯ

МЕТОДИКА

А. ОСНОВНОЙ МИТОГЕНЕТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ

При самых разнообразных исследованиях в области митогенеза задача сводится по существу к обнаружению митогенетического (ультрафиолетового) излучения.

Методика обнаружения ультрафиолета физическими методами довольно проста при его достаточной интенсивности. Однако нич-

слоем вниз. При экспозиции приблизительно в 5 минут получается выраженный митогенетический эффект (путем «самооблучения», т. е. отражения потока фотонов обратно на дрожжевую поверхность).

В опыте с гасителем чашка с водой является контролем, вторая такая же чашка устанавливается при идентичных условиях с исследуемым на наличие гасителя раствором. Естественно, что фотоны, исходящие из дрожжевого блока, поглощаются при этом раствором и поэтому самооблучение дрожжевого блока не обнаруживается.

тожная интенсивность митогенетического излучения совершенно меняет условия его обнаружения: фотографические пластинки даже наивысшей чувствительности, по видимому, непригодны. Остается лишь метод счетчика фотонов—трубки Гейгера-Мюллера, которые, однако, пригодны лишь в известной мере, т. е. лишь для наиболее сильных и длительных источников митогенетического излучения, и требуют большого опыта в конструкции и обращении.

Исследования подобного рода были предприняты целым рядом авторов. После первых в этом направлении опытов Раевского и последовавших вскоре после них исследований Франка и Родионова, давших положительные результаты, последовал ряд работ с очень разноречивыми данными, одинаково ненадежными в случае как положительных, так и отрицательных результатов. В дальнейшем Бартом был произведен тщательный анализ относящихся к этим работам данных и выяснен ряд ошибок как в конструкции аппаратов, так и в выборе соответствующих источников излучения. Выполненные Бартом чрезвычайно тщательно серии, в которых устранены все ошибки, привели к однозначно положительным результатам при применении различных испытанных нами источников митогенетического излучения.

Наиболее обширные по количеству и разнообразию материала исследования в этом направлении принадлежат Одюберу с сотрудниками. Главными источниками излучения послужили здесь различные химические реакции как испытанные уже раньше нами, так и введенные самими авторами. Но наряду с этим положительные результаты получены и с двумя биологическими источниками излучения: седалищным нервом лягушки и гастралами амфибий.

Результаты исследований Одюбера, доложенные им в Фарлеевском обществе, встретили всеобщее признание как подтверждение наших результатов с биологическими детекторами. После этих работ опубликовано еще исследование трех авторов из Рентгенологического института в Бонне (Гребе, Кост и Пейкерт), и поэтому вопрос о возможности применения счетчика фотонов для обнаружения митогенетического излучения можно считать окончательно решенным в утвердительном смысле.

Но наряду с этим приходится констатировать, что этот метод в его современном виде не пригоден для текущей работы с разнообразными, особенно биологическими, источниками излучения, требующими очень быстрой работы (мимолетная вспышка излучения, необходимость спектрального анализа и т. п.).

В соответствии с этим, хотя обнаружение митогенетического излучения счетчиками можно считать в настоящее время твердо установленным, особенно после новейших обширных исследований Одюбера, приходится констатировать, что для обычной работы, особенно с биологическими источниками излучения, в настоящее время не существует физических аппаратов и методов. Единственными методами являются так называемые биологические детекторы.

Наблюдаемые на таких детекторах изменения при облучении слабым ультрафиолетом мы обозначаем как основной митогенетический эффект.

Он выражается в изменении нормального для данного объекта ритма клеточного размножения. Другими словами, в качестве детекторов пригодны любые клеточные комплексы, в которых протекают спонтанные клеточные деления. Мы имеем при этом в виду как колонии микроорганизмов, так и так называемые меристемы растительных или животных организмов, например, зоны размножения корешков, эпителий роговицы и т. д. Необходимой предпосылкой является при этом возможность строгого контроля, т. е. сравнение ритма размножения без облучения и с облучением. Условия такого рода контроля будут, конечно, зависеть от особенностей данного детектора. При пользовании культурами микроорганизмов одна порция данной культуры подвергается облучению, другая культивируется при строго одинаковых условиях без облучения. Если детектором является роговица, облучается лишь один глаз, контролем является вторая.

1. Разновидности основного митогенетического эффекта

Изменения ритма размножения, о котором мы говорили, различны в зависимости от интенсивности и длительности облучения: скорость размножения снижается большими дозами и интенсивностями и стимулируется подходящими малыми. Первое явление мы называем митогенетической депрессией, т. е. «угнетением», второе — положительным эффектом. Однако далеко не во всех случаях можно однозначным простым образом установить, с каким именно эффектом мы имеем дело. Результат вполне однозначен лишь тогда, когда возможно констатировать так называемый интегральный эффект, т. е. прирост количества клеток за определенный промежуток времени. Это удается установить при работе с культурами микроорганизмов. Но по ряду причин, с которыми мы познакомимся в дальнейшем, вообще говоря, удобнее ограничиваться констатированием так называемого моментального (или, быть может, лучше актуального) эффекта, т. е. подсчетом количества одновременно делящихся клеток в равных объемах облученного и контрольного объектов, например, в правой и левой роговице одного животного. При этом надо отдать себе отчет в следующем.

Если в момент фиксации препарата какая-либо клетка *A* застигнута на какой-нибудь стадии митоза, то вероятность этого события будет, с одной стороны, пропорциональна длительности процесса деления, с другой стороны, обратно пропорциональна длительности так называемого интеркинеза, т. е. состояния клетки вне митоза.

Действительно, приравняем длительность митоза одному часу, длительность интеркинеза 20 часам и представим себе, что фикса-

ция данной клетки происходит с одинаковой вероятностью в любой момент полного жизненного цикла клетки, равного, согласно допущению, 21 часу. Совершенно ясно, что вероятность застигнуть клетку именно во время митоза будет равна дроби $\frac{M}{M+I}$, т. е. в данном случае $\frac{1}{21}$ (M — длительность митоза, I — длительность интеркинеза).

В то же время, так как общее количество митозов в препарате будет пропорционально вероятности каждого отдельного митоза, то получится следующий окончательный результат: число митозов в препарате повысится в двух случаях — или при удлинении продолжительности митоза, т. е. при угнетении процесса, или при сокращении длительности интеркинеза, что можно толковать только как стимуляцию деления.

Снижение числа митозов будет, наоборот, соответствовать или укорочению длительности митоза, т. е. стимуляции процесса, или удлинению интеркинеза, т. е. угнетению жизненного цикла.

Такая неопределенность в толковании результатов становится вполне реальной для тех детекторов, где длительности митоза и интеркинеза близки или по крайней мере сравнимы друг с другом. Так обстоит, например, дело с культурами дрожжей.

Но в тех случаях, где длительность интеркинеза во много раз превосходит продолжительность митоза (повидимому, все мериастемы), толкование эффекта, проявляющегося через короткое время после облучения, становится уже совершенно однозначным. Так, например, в приведенных на стр. 215 опытах Пономаревой, где резкие эффекты обнаруживаются уже через 5 или 10 минут после начала облучения, не может быть и речи о сокращении или удлинении на 30—40% многочасовой длительности интеркинеза, и увеличение числа митозов может быть объяснено лишь замедлением ритма деления. Это заключение находит полное подтверждение в только что цитированных опытах Пономаревой, где охлаждение одной роговицы приводит уже в течение 10 минут к значительному увеличению числа митозов по сравнению с контрольным глазом. Вместе с тем общеизвестно, что охлаждение тканей влечет за собой очень значительное замедление течения митозов.

2. Детекторы с интегральным эффектом

Из всего предыдущего вытекает, что этой категории детекторов следовало бы отдать преимущество перед детекторами моментального (актуального) типа. Действительно, в руках различных авторов бактериальные и дрожжевые культуры в жидкой среде дали большие серии очень ярких и вполне однозначных результатов, которые могут оцениваться самыми различными способами: высевом и подсчетом колоний, нефелометрией или учетом объемов (для дрожжей посредством так называемых митцетокритов).

Однако ряд обстоятельств убедил большинство работников в малой практической пригодности интегральных детекторов. Помимо ряда технических трудностей, которые, может быть, могли бы

быть устранены и не особенно велики при применении мицетокритов, основным недостатком бактериальных и дрожжевых культур в жидких средах являются нередкие перебои, т. е. недостаточная воспроизводимость результатов, в противоположность абсолютно постоянству детекторов моментального характера. Причины этого своеобразного явления мы попытаемся выяснить ниже (стр. 258).

За последние годы интегральные детекторы совершенно вышли из употребления в нашей лаборатории. Однако один из них — культуры дрожжей в жидкой среде — сохраняет свой интерес в силу того, что при его помощи получено много ценных результатов, подтвержденных впоследствии другими методами.

3. Детекторы с моментальным эффектом

Практическое значение сохранили лишь два детектора — эпителий роговицы лягушки (или мыши) и культуры дрожжей на агаре.

В противоположность детекторам с интегральным эффектом оба только что названных объекта дают при правильной методике абсолютно бесперебойные, т. е. воспроизводимые, результаты, постоянство которых так велико, что в тех немногочисленных сериях, где положительные эффекты чередуются с нулевыми, можно с полной уверенностью утверждать, что сам источник излучения лишен постоянства.

Эпителий роговицы не может получить широкого распространения для массовых опытов в силу трудности техники обработки препаратов, требующей большого навыка, и медленности подсчета митозов. Даже при многолетнем опыте с этим объектом на подсчет одного опыта (двух глаз) тратится обычно целый рабочий день.

Число митозов в роговице лягушки подвержено как сезонным, так и индивидуальным колебаниям и равно обычно нескольким сотням, доходя нередко до тысячи. Типичный эффект индукции колеблется обычно между 30 и 50%, т. е. выражается приблизительно в 200—300 митозах и поэтому вполне достоверен. Долголетние исследования нашей лаборатории (Ю. Н. Пономарева), охватывающие колоссальный материал, показывают с полной достоверностью, что различия в количестве митозов двух нормальных, т. е. не подвергавшихся экспериментальному воздействию, глаз не превышают 5—6%. Сомнения относительно этой основной предпосылки для пользования роговицей в качестве детектора, высказанные некоторыми авторами, имеют источником лишь технические погрешности с их стороны.

Основным детектором по простоте и скорости работы являются культуры дрожжей на агар-агаре. Этот метод применяется нами в массовом масштабе уже свыше 12 лет, и количество опытов одной лишь нашей лаборатории исчисляется многими десятками тысяч. Нельзя вместе с тем не упомянуть и некоторые теневые стороны метода.

Так как он основан на подсчете, а следовательно, и на оценке почек определенных калибров, то в процессе работы, несомненно, налицо некоторый субъективный момент со всеми вытекающими из этого обстоятельства последствиями. Не подлежит сомнению, что процесс обучения счету, т. е., вернее, приобретение навыка и полной уверенности в правильности счета, дается одним лицам гораздо труднее, чем другим. В некоторых, правда, к счастью, очень редких, случаях даже при длительном упражнении не приобретает-ся достаточная уверенность в счете.

Однако не следует и переоценивать эти трудности.

С субъективной неуверенностью счетчику легче всего бороться путем счета «вслепую», т. е. после предварительной шифровки препаратов: счетчик не знает при этом, считает ли он препарат из индуцированной или из контрольной культуры, и этим самым, конечно, устраняется всякая возможность некоторой бессознательной «подтасовки» в ожидаемом в данном случае смысле.

Подавляющее большинство работающих приобретает обыкновенно уже после 3—4-недельной тренировки не только полную уверенность, но и автоматизм в подсчете почек, всецело гарантирующий от всякого произвола или ошибок. Преимущества агародрожжевого метода перед всеми остальными (детекторами, включая и роговицу, многочисленны и разнообразны.

Помимо крайней простоты и скорости работы при достаточном навыке (у опытного счетчика подсчет одного опыта отнимает не более 30—40 минут), чрезвычайно ценными являются следующие свойства агарового детектора:

1. Удобство работы при сложных опытах, где приходится устанавливать одновременно в очень ограниченном объеме ряд отдельных детекторов, иногда очень малых размеров.

2. Возможность довести достоверность результата хотя бы одного одиночного, но почему-либо трудно воспроизводимого опыта до любой степени. Ввиду того что количество дрожжевых клеток в хорошо приготовленном препарате равно многим десяткам тысяч, представляется всегда возможность подсчета настолько большого числа клеток от индуцированной и от контрольной культуры, что результаты могут быть подвергнуты разносторонней и строгой статистической обработке, принятой в аналогичных случаях в различных дисциплинах.

Практика показала, что, как правило, подсчет 2 000—3 000 клеток препарата приводит уже к достоверному результату. Об этом можно судить по тому, что дальнейшее продолжение подсчета уже не вносит изменений в процентные отношения почек к клеткам.

Однако, если речь идет о реальном опыте, т. е. обнаружении митогенетического эффекта, необходимо учесть и другую сторону вопроса.

Даже идеально равномерно засеянная дрожжевая культура не обнаруживает полной статистической равномерности процентного числа почек в своих различных участках. Другими словами, даже при подсчете большого материала редко наблюдается полное сов-

падение между двумя участками культуры, размером приблизительно в квадратный сантиметр каждый. Среднее расхождение можно оценить по совокупности всего нашего материала приблизительно в 5%. Расхождения в 10—12% уже чрезвычайно редки (приблизительно в одном случае на сто).

Принимая во внимание отсутствие идеального совпадения между облученной и необлученной культурой, мы можем признать эффект облучения реальным лишь в том случае, если он превосходит по крайней мере в 3 раза вероятную ошибку разницы между облученным и необлученным участком. Вычисления производятся следующим образом.

Распределим наш материал группами по 100 клеток с соответственным количеством почек, например, 100 клеток — 5 почек, 100 клеток — 9 почек и 100 клеток — 1 почка.

$$P \text{ (вероятная ошибка стат. вычисления материала)} = 0,6745 \sqrt{\frac{\Sigma \delta^2}{n(n-1)}}$$

где $\Sigma \delta^2$ — сумма квадратических отклонений от средней, n — число статистических единиц. Например, если средняя арифметическая в приведенном выше столбце равна 5 мм, то индивидуальные квадратические отклонения будут 0,16, 16. При обычном подсчете 2 000 клеток $n=20$.

Вероятная ошибка эффекта равна $\sqrt{P^2_{\text{эффект}} + P^2_{\text{контроль}}}$, т. е. квадратный корень из

(вероятной ошибки опыта)² + (вероятной ошибки контроля)².

На практике, в особенности, если речь идет не о казуистических исследованиях (как, например, диагноз рака), нет основания придавать решающее значение единичному, даже вполне убедительному опыту. Ввиду сравнительной простоты большинства опытов окончательный вывод о реальности эффекта гораздо легче и достовернее основывать на серии из нескольких, совпадающих по своим условиям опытов. Бесперебойность результатов является здесь новой гарантией реальности результата и вместе с тем и надежности самого метода.

Мы приводим в качестве примера одну такую серию: спектральный анализ так называемого «гликолитического» излучения (приведен весь опытный материал по Деккер).

П о л о с ы

1890—1900	1900—1905	1905—1915	1915—1920	1920—1930
—	30	5	29	—
—8	32	—7	45	—8
—2	40	5	50	4
11	61	—1	74	15
8	35	0	57	—
—8	19	5	—	—
—2	40	—2	30	—2
3	45	9	21	—4
1	50	9	39	—9
5	38	—5	69	6
I	II	III	IV	V

Мы видим, насколько однозначны «нулевые» эффекты (столбцы I, III и V) и «положительные» эффекты (столбцы II и IV).

В. АНАЛИЗ ОСНОВНОГО МИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА

Мы должны различать при анализе основной проблемы митогенеза два не связанных непосредственно друг с другом вопроса. Один из них уже был трактован с исчерпывающей полнотой выше. Он касался роли фотонов ультрафиолета в самом процессе митоза.

Не менее сложен, однако, и второй вопрос: каким образом объяснить столь значительный сдвиг в числе митозов (достигающий иногда 100%) при облучении ничтожной интенсивности и длительности, если принять во внимание, что все биологические детекторы являются в то же время и излучателями и, следовательно, их клетки находятся в постоянном собственном лучевом режиме, превосходящем, как мы сейчас увидим, по своей интенсивности облучение, подводимое извне.

Измерения интенсивности обычных источников митогенетического излучения проводились неоднократно чисто физическими методами (счетчиками фотонов), но носят, конечно, лишь грубо приближенный характер.

Однако данные всех авторов сходятся на том, что при обычных условиях опытов со счетчиками, т. е. на расстоянии порядка 1—2 см излучающей поверхности от детектора, на 1 см² поверхности последнего приходится количество фотонов порядка тысячи в секунду.

Такие ничтожные интенсивности лежат уже далеко за пределами чувствительности фотопластинок, однако значительно превышают пороговые величины для биологических детекторов. При спектральном разложении излучения обычных источников на детектор, поставленный против одиночной полосы спектра, приходится при некоторых условиях не более нескольких десятков фотонов за все время экспозиции. Мы имеем поэтому все основания приравнять чувствительность биологических детекторов к митогенетической области ультрафиолета, к чувствительности сетчатки к видимому свету¹.

Ничтожная интенсивность ультрафиолета, достаточная для обнаружения биологическими детекторами его действия, ставит нас перед рядом своеобразных и еще далеко не выясненных проблем.

Соотношение между числом фотонов, поглощенных данным детектором, и количеством отреагировавших делением клеток должно обычно значительно превышать 1:1 в случае, если эффект вообще ощутим. Пределы этого соотношения имеют очень значительный диапазон в зависимости от характера детектора.

¹ По данным школы С. И. Вавилова, световое ощущение возникает уже при 60 фотонах, по расчетам Гехта (Hecht)—всего 5—10 фотонов.

В то время как весь прирост количества клеточных делений в таких объектах, как растительные корешки, выражается в нескольких сотнях клеток, он уже значительно выше в другой меристеме — эпителии роговицы. Мы заключаем это не только из непосредственного подсчета митозов на облученном и контрольном объекте, но и из распределения эффекта по времени. Прирост митозов в луковом корешке обнаруживается примерно через один час после кратковременного облучения и окончательно затухает в конце четвертого часа. Длительность митоза здесь (по косвенным данным) порядка одного часа, количественный перевес в каждый данный отрезок времени выражается несколькими десятками или сотней клеток. Таким образом, мы вправе заключить, что общее количество сверхсметных, чисто реактивных митозов держится в пределах нескольких сот клеток, т. е., быть может, не превышает или даже уступает числу поглощенных меристемой фотонов.

Соотношения в эпителии роговицы значительно более благоприятны, что можно заключить из следующих данных.

Реакция клеток наступает без измеримого латентного периода, т. е. уже в первые минуты облучения, и обнаруживается еще через 5—6 часов. Вместе с тем длительность митоза, как мы видели из данных Пономаревой, не превышает 12—15 минут, скорее даже меньше. Из сопоставления этих данных вытекает, что общее количество отреагировавших клеток очень велико, так как оно выражается уже в каждом данном сечении по времени несколькими сотнями клеток.

Принципиальная разница между той и другой меристемой выражается, однако, не столько в общем количестве отреагировавших клеток, сколько в том, что в эпителии роговицы уже ясно выражен «цепной» характер реакции, чего нельзя сказать с достоверностью относительно растительных меристем. Под цепным характером мы, по аналогии с так называемыми цепными химическими реакциями, подразумеваем, что реакция не ограничивается теми клетками, которые непосредственно поглотили подводимые извне фотоны, но вызывает и дальнейшие процессы в меристеме, которые в свою очередь имеют следствием возникновение новых митозов. Этой реакцией является, повидимому, вторичное излучение меристемы.

Цепной характер митогенетического эффекта ограничен и во времени и по району распространения. В пространственно ограниченных объектах, вроде роговицы, эффект затрагивает, повидимому, весь орган, затухая через более или менее длительный промежуток времени.

В детекторах неограниченной площади и объема — культурах микроорганизмов — можно изучить условия распространения эффекта в пространстве и по времени во всей их полноте.

Предел соотношения между числом поглощенных такими детекторами фотонов и количеством реактивных (т. е. вызванных этими фотонами) делений не поддается точному определению, так как по крайней мере в культурах в жидких средах не удается установить границы распространения эффекта в доступных для обычных опы-

тов объемах. Поэтому в этих случаях можно констатировать, что на один поглощенный детектором фотон могут приходиться многие сотни тысяч реагирующих митозами клеток.

Длительность эффекта и в таких детекторах ограничена и эффект обрывается, например, в культурах дрожжей через 2 часа.

Цепной характер эффекта выступает здесь, конечно, с особенной яркостью. Не подлежит также сомнению, что основным фактором, обуславливающим цепной характер, является вторичное излучение, возникающее в детекторе при поглощении фотонов. Доказательством этого положения служат следующие факты.

Распространение эффекта выходит далеко за пределы облученного участка. Правда, в особенности если речь идет о культурах в жидкой среде, всегда возможно возражение, что передатчиком возбуждения являются не фотоны (т. е. вторичное излучение), но диффузия какого-то вещества, возникающего в облученном участке.

Однако это предположение опровергается следующим опытом. В небольшой сосуд, заполненный взвесью дрожжевых клеток в сусле, погружается капиллярная трубка с такой же взвесью. Строго ограниченный пространственно участок облучения отделен довольно значительным расстоянием от отверстия капилляра. После облучения, длящегося всего 2 минуты, капилляр немедленно отделяется от главного сосуда и его содержимое испытывается после необходимого периода инкубации на наличие эффекта. При этих условиях речь может идти, конечно, лишь о диффузии фотонов, но никоим образом не о диффузии какого-нибудь химического возбудителя.

В то же время можно показать не только наличие вторичного излучения в детекторе, но и его значительное нарастание по мере распространения по субстрату. Об этом можно судить не только на основании облучения детектора, но и более непосредственно, на основании следующего соображения.

Так как дрожжевая культура, будучи детектором, обладает в то же время и собственным излучением, то если правильно предположение о вторичном излучении, излучение детектора должно во всяком случае слагаться из первичного и вторичного излучения.

Вместе с тем из модельных опытов нам известно, что вторичное излучение обладает значительным инкрементом, т. е. нарастает по мере отделения от места облучения.

Из этого вытекает, что общее излучение культуры в жидкой среде должно быть по своей интенсивности по крайней мере в известной степени функцией от ее объема. Опыт вполне подтверждает это предположение: при испытании двух столбов одного диаметра жидкой дрожжевой культуры, отличающихся только по длине (1 и 9 см), излучение последней было по крайней мере в 3 раза интенсивнее, чем первой.

Из всего предшествующего напрашивается один вывод.

Между поглощенным, приходящим извне фотоном и реагирующей клеткой вклинивается новый фактор в виде вторичного излучения.

Ввиду этого основная проблема митогенетического эффекта — необычайное соотношение между количеством подведенных к детектору фотонов и числом возбужденных ими к делению клеток — требует для своего разрешения прежде всего сведений о лучевом режиме детектора, предоставленного самому себе, и об изменении этого режима, при облучении извне, сопровождающемся так называемым эффектом.

Некоторое представление о собственном лучевом режиме мы можем составить на основании анализа дрожжевых культур в жидкой среде (сусле).

Мы будем исходить из несколько упрощенных и схематизированных данных. Как уже указывалось выше, интенсивность излучения обычных биологических источников оценивается в величину порядка 1 000 фотонов в секунду на 1 см^2 детектора, находящегося на расстоянии 1 см от источника такой же площади. Если представить себе для наглядности излучающую площадь в 1 см^2 в виде шаровой поверхности, то легко понять, что из диффузного и направленного равномерно по всем направлениям излучения такого шаровидного тела на детектор попадает лишь часть всего излучения. Общую величину последнего можно получить, если описать вокруг шаровидного излучения как центра шаровую поверхность, радиусом 1 см. Площадь такой поверхности будет равна в круглых цифрах 12 см^2 .

Таким образом, согласно прежнему расчету, что на 1 см^2 детектора приходится 1 000 фотонов в секунду, общее излучение шаровидного излучателя будет равно 12 000 фотонов в секунду.

Так как все направления пути фотона равно вероятны, то статистически одинаковое их количество будет направлено как наружу, т. е. излучаться, так и внутрь субстрата. Из этого вытекает, что если площадка в 1 см^2 излучает наружу 12 000 фотонов в секунду, то столько же остается и в самом субстрате.

Но такая формулировка явно неудовлетворительна: весь вопрос в том, какова толщина того слоя (или, вернее, как велик тот объем), из которого излучается интересующее нас количество фотонов. Только ответ на этот вопрос даст нам представление о том, какова концентрация фотонов, т. е. лучевой режим детектора, который мы теперь рассматриваем и как источник излучения. Вопрос решается путем измерения поглощательной способности среды (сусла). Слой приблизительно в 50 микронов уже нацело поглощает митогенетическое излучение. Из этого можно сделать вывод, что наблюдаемое излучение культуры относится к толщине приблизительно в 25—30 микронов, т. е. при поверхности площадки в 1 см^2 к объему в $0,002 \text{ см}^3$.

По приблизительному расчету в таком объеме в культурах обычного типа содержится около 2 000 дрожжевых клеток, на долю которых приходится около 12 000 фотонов в секунду. Однако при

приблизительном расчете приходящихся на долю одной клетки фотонов в секунду надо принять в расчет, что 2 000 клеток, объема примерно 20 кубических микронов каждая, занимают лишь незначительную часть общего объема среды, и, следовательно, число поглощаемых всеми клетками фотонов составляет очень незначительную дробную часть наличных фотонов, при предположении, конечно, их статистически равномерного распределения в среде. Однако последнее распределение мало вероятно. Излучение культуры, взятой как целое, несомненно, в известной степени испускается самими клетками, хотя, по видимому, главным образом возникает в среде под влиянием выделяемых клетками ферментов и поэтому, вероятнее всего, в непосредственном соседстве с клетками даже, быть может, эпителиально.

Поэтому можно считаться с возможностью или даже вероятностью, что значительная часть фотонов среды может быть использована клетками и что поэтому в среднем клетки находятся в лучевом режиме порядка нескольких фотонов в секунду.

При полном жизненном цикле дрожжевых клеток, находящихся в периоде максимального размножения, длительности порядка 60 минут, клетка поглощает за этот период в среднем несколько тысяч фотонов, и этим количеством и обусловлен ее нормальный митогенетический режим.

Анализ митогенетического эффекта стоит перед двумя проблемами:

1. Какое влияние на внутренний лучевой режим оказывает облучение культуры извне, т. е. чем обуславливается митогенетический эффект в тесном смысле слова (стимуляция клеточного размножения)?

2. Какая степень зависимости существует между наличием лучевого режима и клеточным делением?

Для ответа на первый вопрос представим себе культуру детектора в виде столба с поперечным сечением в 1 см и разложим его мысленно на поперечные отрезки порядка 20 микрон толщины, соответственно приблизительно половинному поглощению фотонов суслом.

Любой такой отрезок, кроме внешнего, будет получать по 1 000 фотонов в секунду из обоих прилегающих к нему соседних, наружный же отрезок будет облучаться только с одной (внутренней) стороны.

При облучении извне поверхностный отрезок будет таким образом поставлен в одинаковые условия с внутренними, т. е. получит прирост к своему нормальному режиму приблизительно на 10%. Этот прирост вызовет эффект, т. е. стимуляцию размножения порядка 30—40% (средний эффект в жидких культурах). Это превышение эффекта по сравнению с подаваемым количеством фотонов можно свести на доказанный Зысиным значительный инкремент вторичного излучения глюкозы (а следовательно, и сусла) при распространении цепной реакции от места облучения, и поэтому объяснение столь значительного эффекта индукции не представляет

особых трудностей. Мы видели к тому же из предыдущего, что уже в очень незначительных объемах дрожжевой культуры собственное излучение очень круто нарастает в зависимости от увеличения объема, т. е. возрастания возможностей для цепной реакции длины пути. Вместе с тем при изучении вторичного излучения глюкозы было показано, что интенсивность вторичного излучения является в известных пределах функцией интенсивности источника облучения. Этими обстоятельствами и объясняется в некоторой мере эффективность самого по себе слабого облучения извне.

Мы видим, что наш анализ основного митогенетического эффекта основывается существенным образом на использовании свойств вторичного излучения однородных систем. При этом необходимо, однако, принимать во внимание и своеобразие митогенетического режима живых систем.

Основное различие заключается в быстрой утомляемости в смысле способности ко вторичному излучению однородных растворов и постоянстве митогенетического режима в течение длительного времени живых излучающих систем. Этот факт тем более знаменателен, что постоянство излучения живых систем (по крайней мере некоторых меристем) обусловлено отсутствием актинического воздействия извне. При облучении таких систем обнаруживается довольно быстро наступающее истощение их излучения.

Мы уже видели, что митогенетическое «утомление» растворов обусловлено появлением в них продуктов фотодиссоциации, обладающих свойствами «гасителей». Именно наличием этого процесса и объясняется то обстоятельство, что, несмотря на неограниченное в пространственном смысле распространение процесса вторичного излучения, сопровождающегося даже значительным инкрементом, интенсивность процесса остается минимальной, т. е. цепная реакция никогда не доходит до конца, до действительного истощения субстрата. Следовало, конечно, ожидать, что такие же гасители появляются и в живых системах, если даже не в самих клетках, то по крайней мере в питательных средах, вроде сусла.

Легко доказать, что это действительно так. Но вместе с тем можно обнаружить и процесс непрерывного разрушения возникающих гасителей под влиянием ферментативной деятельности клеток. Доказательство основано на следующем опыте.

Раствор глюкозы приводится в негодность (в смысле вторичного излучения) достаточно длительным облучением. После этого к нему прибавляется некоторое количество тщательно отмытых от сусла дрожжей, утрачивающих в воде свое излучение.

В первые 2—3 минуты по прибавлении дрожжей излучение из глюкозы не обнаруживается. Но по прошествии этого времени оно восстанавливается с полной интенсивностью. Из этого можно прийти к заключению, что вызвавший утомление гаситель разрушен под влиянием деятельности дрожжевых клеток.

Постоянство митогенетического режима дрожжевых культур в течение многих часов можно истолковать следующим образом.

Под влиянием собственного излучения культуры (взятого суммарно, т. е. излучения самих клеток и первичного и вторичного излучения среды) в ней возникает гаситель, все более и более тормозящий излучение. Наступающее ослабление излучения в свою очередь ослабляет дальнейшее накопление гасителя и т. д.

Вследствие непрерывного воздействия обоих антибатных факторов друг на друга устанавливается так называемое динамическое равновесие режима культуры, регулируемое ее внутренним состоянием.

Облучение культуры извне должно внести известное нарушение равновесия, ввиду того что интенсивность облучения не регулируется самой культурой, подпадающей при этом как бы чисто пассивно под внешнее воздействие. При этом можно себе представить, что после некоторого периода заметного повышения интенсивности лучевого режима культуры начинает нарастать и обратный эффект — повышение концентрации гасителя. Если допустить, что при этом могут реализоваться условия, при которых разрушение гасителя отстает от нарастания его концентрации, то в результате после первоначального повышения лучевого режима культуры может наступить состояние депрессии, выражающееся в снижении интенсивности режима и как следствие этого и темпа размножения клеток.

Такое угнетающее действие чрезмерно длительного облучения детекторов установлено уже вскоре после обнаружения положительного эффекта. Следует, однако, вполне объективно признать, что хотя приводимая здесь попытка объяснения этого явления — его сведение на чрезмерное накопление гасителя, несомненно, содержит долю истины и является в настоящее время единственно возможной, она все же не может считаться исчерпывающей и многие факты нуждаются еще в дальнейшем выяснении.

Непосредственным результатом облучения детектора является, как мы убедились, заметный сдвиг его лучевого режима — в положительную сторону при умеренной длительности облучения, в отрицательную — при чрезмерной длительности (повидимому, и интенсивности).

Нарастание концентрации гасителя при облучении является, повидимому, удовлетворительным объяснением той пропасти, которая до сих пор наблюдалась между результатами воздействия ультрафиолета от физических источников обычной интенсивности и данными, получаемыми митогенетическим путем, т. е. от источников облучения минимальной интенсивности.

Стимулирующее действие можно ожидать исключительно в последнем случае, так как только здесь сравнительно медленное нарастание концентрации гасителя дает возможность и время для возникновения положительной фазы эффекта, т. е. нарастания лучевого режима культуры.

Как мы убедимся в дальнейшем, физиологическая роль фотонов не исчерпывается только их количеством, приходящимся на одну клетку, но определяется главным образом их распределением по

времени. Есть веские основания предполагать, что одновременное поглощение многих фотонов одной клеткой может привести лишь к нарушению ее физиологического режима и что действительно стимулирующим фактором является тот режим, который повышается самопроизвольно или путем облучения на 10—20%. Он выражается, как мы видели, интенсивностью порядка одного или нескольких фотонов на клетку в секунду. При полном жизненном цикле дрожжевой клетки порядка одного часа речь идет таким образом о нескольких тысячах фотонов как всей сумме воздействия лучевого режима.

Хотя наш анализ мог быть проведен только на одном специальном типе детектора — на культурах дрожжей в жидкой питательной среде, но принципы его сохраняют силу и для детекторов иного типа.

Вторичное излучение в детекторе является повсюду решающим фактором, обуславливающим поразительное несоответствие между количеством поглощенных детектором внешних фотонов и эффектом, т. е. числом сверхсметных, реактивных клеточных делений.

В двух практически важнейших детекторах — дрожжевых культурах на агаре и эпителии роговицы — мы имеем дело с новыми по сравнению с нашим первым объектом факторами, значительно видоизменяющими отдельные этапы реакции. Оба эти детектора построены по одному общему принципу.

Подвергающийся внешнему облучению и, конечно, практически нацело его поглощающий внешний клеточный слой состоит из старых, близких к отмиранию клеток, совершенно неспособных к делению. Вместе с тем по ряду данных вряд ли можно сомневаться в том, что именно их непосредственная реакция на облучение играет решающую роль в дальнейшем, потому что внешнее излучение поглощается именно ими.

Таким образом, следует допустить, что субстратом вторичного излучения в разбираемых нами детекторах является не жидкая фаза (сусло), как в культурах с жидкой средой, но определенные категории клеток: поглощая максимум один фотон внешнего облучения, каждая из этих клеток реагирует вторичным излучением минимум нескольких фотонов, повышая такими повторными актами общий уровень митогенетического режима культуры. При этом, однако, дальнейшее течение реакции, не представляющее особых затруднений для понимания в однородных во всех своих частях жидких культурах, в данном случае остается во многих отношениях неясным.

В особенности трудно дать ответ на два основных вопроса:

1. Возникает ли при этих условиях гаситель, и если да, то где именно он локализуется?

2. Какие именно категории клеток многослойных культур обладают способностью ко вторичному излучению?

Мы начнем с рассмотрения второго вопроса.

Вторичное излучение клеток впервые обнаружено на луковых корешках. Можно было показать, что обычный митогенетический эффект, т. е. перевес в числе митозов на облученной половине корешка по сравнению с теневой, обнаруживается в том случае, если облучается не самая меристематозная часть, в которой обнаруживается эффект, а зона вытяжения. При этих условиях митогенетическое возбуждение могло перейти только из этой зоны к меристеме, однако нет непосредственного доказательств, что это возбуждение является в данном случае именно излучением (вторичным).

Однако наличие вторичного излучения могло быть непосредственно доказано на отрезанных луковых корешках, утрачивающих немедленно свое первичное излучение (Перепелкина, Потоцкая и Цоглина). При облучении зоны вытяжения здесь легко обнаруживается излучение из меристемы. Несколько иначе обстоит дело при облучении меристемы: излучение из зоны вытяжения получается здесь лишь при определенных условиях, а именно при сравнительно коротком облучении с длительными перерывами. В то время как непрерывное облучение в течение 1 минуты не дает результата, трехкратное облучение по 20 секунд с перерывами по 10 минут приводит к ясно выраженному эффекту.

При всей осторожности в толковании этих сложных, но основных по своей важности данных мы должны, повидимому, прийти к следующему выводу.

Относительно клеток в зоне вытяжения мы стоим перед следующим фактом. Вторичное излучение быстро затухает в поперечном направлении корешка и распространяется без заметного декремента по его длине.

Обоснованием этого положения является следующее соображение: если бы распространение в поперечном направлении шло без декремента, то затененная половина корешка находилась бы в одинаковом режиме с облученной, т. е. вообще не могло бы быть ощутимого нашим методом эффекта.

Вместе с тем сравнительно быстрое затухание излучения в поперечном направлении можно свести на существенные различия в строении продольной и поперечной поверхности растительной клетки: поперечные поверхности гораздо мельче и нежнее, чем продольные, так как клеточные деления происходят практически почти исключительно в поперечном направлении. Однако сам факт излучения в зоне вытяжения из ее поверхности показывает, что и продольная поверхность клетки обладает довольно значительной степенью прозрачности.

Преимущественное проведение вторичного излучения по длине корешка приходится ввиду этого свести не на большую прозрачность поперечных стенок, но на несомненно существующую органическую связь (плазматические мостики) между поперечными поверхностями клеток, в то время как боковые поверхности их действительно свободны и отделены друг от друга прослойками воздуха.

Своеобразное по сравнению с зоной вытяжения поведение меристемных клеток приходится, повидимому, объяснить следующим образом.

Клетки, еще способные к делению, т. е. проходящие определенный цикл созревания к делению, способны реагировать вторичным излучением лишь в определенные этапы своего цикла. Поэтому в каждый данный момент лишь некоторая, сравнительно небольшая часть всех меристемных клеток реагирует вторичным излучением, и после этого наступает истощение всего клеточного комплекса, пока не созреет новая волна способных к вторичному излучению клеток. Этим и объяснялась бы вполне удовлетворительно полезность довольно длительных перерывов в освещении (см. выше).

После каждого из них освещение может захватывать новые, созревшие для вторичного излучения группы клеток.

Сделанные нами, правда, несколько гипотетические, выводы могут быть в известной степени использованы и при анализе двух важнейших детекторов дрожжевых культур на агаре и эпителия роговицы.

Клетки зоны вытяжения мы можем здесь сопоставить с поверхностными слоями многоклеточного пласта. Общим является, правда, лишь одно очевидное их свойство — утрата способности к размножению. Мы имеем, однако, все основания для предположения, что эти категории клеток являются также вторичными излучателями. Если бы это было не так, то физиологическое излучение этих двух систем было бы трудно объяснить, так как по совокупности своих биологических данных близкие к некробиозу поверхностные слои дрожжевой культуры и шелушащиеся поверхностные клетки роговицы вряд ли обладают ферментативным метаболизмом, который можно сделать ответственным за их первичное излучение. Вместе с тем нельзя допустить их прозрачности для излучения, идущего из глубины. Поэтому вывод, что речь идет именно о вторичном излучении, вызванном излучением глубже лежащих слоев, является, по видимому, несомненным.

Эволюция биологических свойств отдельных слоев многослойного эпителия или дрожжевой культуры на агаре, начиная из наиболее глубокого, герминативного слоя, идет, конечно, постепенно. Если один или два поверхностных слоя, близкие к отмиранию, являются несомненными вторичными излучателями и также несомненно лишены спонтанного излучения, то несколько более глубоко лежащие, т. е. примыкающие к ним, слои представляют, очевидно, переходные свойства, т. е. обнаруживают до некоторой степени и свойства вторичного и первичного излучения.

Во всяком случае излучение этого слоя не может быть особенно сильным, так как в противном случае индуцированное им вторичное излучение поверхностного слоя было бы насыщенным, и этим исключался бы всякий эффект облучения извне.

Этот средний слой, индуцирующий вторичное излучение поверхностных клеток, является, таким образом, источником собственного излучения детектора, не подвергающегося облучению извне. В свою очередь в том случае, если детектор должен обнаружить митогенетический эффект, т. е. отреагировать на облучение извне, этот промежуточный пласт является, по видимому, той средой, где эффект скажется всего ярче. Послойный анализ дрожжевых культур на агаре, проведенный очень остроумными методами Бароном, дал точное доказательство этих положений.

В настоящее время не подлежит сомнению, что в детекторах, культурах микроорганизмов, эффект можно ожидать лишь в том состоянии, где размножение не достигло вообще максимально возможной интенсивности. В таком именно физиологическом состоянии находятся средние пласты дрожжевой культуры на агаре: ввиду того что здесь скоплены уже довольно отдаленные от питательного субстрата и постепенно стареющие клетки, собственный лучевой режим держится здесь не на максимальном уровне, и поэтому его повышение, обусловленное усиливающимся при облучении извне вторичным излучением поверхностного слоя, оказывается, по видимому, наиболее эффективным.

ПОСЛЕСЛОВИЕ

Мы выделили в нашем изложении все основные проблемы митогенеза, которые разрабатывались до последнего времени в нашей лаборатории. Митогенетические работы, выполняемые в других лабораториях, особенно много в Италии и Японии, вносят мало принципиально нового в общую современную картину митогенеза, так как большая часть их занята попытками подтвержде-

ния (или опровержения)¹ основного митогенетического эффекта или клиническими применениями явлений тушения и т. д.

Пестрота затронутых проблем, отсутствие между ними внутренней связи не могут не вызвать некоторого недоумения и даже разочарования у большинства читателей. Невольно возникает вопрос: можно ли вообще говорить о «митогенезе» как об определенной научной дисциплине и как себе представить ее дальнейшее развитие?

Хотя заглядывать в будущее всегда несколько рискованно, но тем не менее нам кажется, что ответ на последний вопрос все же может быть дан с достаточной степенью обоснованности.

«Общий митогенез», т. е. концентрация всех разрабатываемых проблем и областей в одной лаборатории и в одних руках, является лишь временным состоянием, обусловленным как молодостью нового направления, так и рядом привходящих обстоятельств, которые могли бы и отсутствовать. Мы имеем в виду паразитическое равнодушие к митогенезу всех тех, кто не решил посвятить работе в этой новой области, хотя бы на известное время, все свое время и силы.

Ближайшее будущее митогенеза можно себе представить лишь в следующей альтернативе: он захиреет, заглохнет и будет забыт, или он перестанет быть особой специальностью и войдет в обиход самых различных дисциплин, подобно тому, как мы наблюдаем это в настоящее время с лучами Рентгена.

Мы можем исходить в наших дальнейших соображениях, конечно, лишь из второй альтернативы, и здесь, быть может, не лишено известного смысла сделать некоторые общие выводы и набросать в общих чертах перспективу будущего. Она уже вытекает отчасти из всего содержания нашей книги.

Ряд основных проблем биологии получает новое освещение благодаря использованию митогенетических методов и обдумыванию полученных результатов. Вопрос о перспективах на будущее сводится для нас в настоящее время к тому, насколько уже исчерпаны в применении к затронутым вопросам экспериментальные и, если можно так выразиться, умозрительные возможности.

Ответ будет, по видимому, не одинаков в применении к различным случаям, притом не одинаков в различном смысле.

Совершенно ясно, что относительно любой из проблем всегда возникнут новые вопросы. Но если даже можно, по крайней мере в известной мере, составить программу для дальнейшего, то далеко не во всех случаях видна при этом перспектива участия митогенетических методов. К этой категории принадлежит в на-

¹ Мы можем нацело отказаться от всякой дискуссии по поводу опровержения ввиду того, что этот вопрос был совсем недавно трактован исчерпывающим образом (С. Я. Залкинд), и особенно после дискуссии, имевшей место в 1939 г. по поводу доклада Одюбера на конференции Фарадеевского общества в Кембридже. Убедительность данных докладчика, работавшего исключительно счетчиком фотонов, не оспаривалась никем из присутствующих, а сам факт, что результаты Одюбера являются полным подтверждением наших данных, был подчеркнут как Прингсгеймом, так и Вавиловым.

стоящее время важнейшая затронутая нами проблема — проблема клеточного деления.

В ней между как будто уже удавшимся довольно полным, быть может, даже исчерпывающим выяснением роли ультрафиолетовых фотонов в процессе деления и между пониманием механизма этого процесса во всей его специфичности зияет целая пропасть, и исследователь стоит в некотором недоумении перед предстоящей ему задачей. Митогенез как будто сыграл здесь свою роль.

Остальные затронутые нами проблемы: ферментативные процессы, нервное возбуждение, карцинома, сохраняют совершенно явным образом и в дальнейшем теснейшую связь с митогенезом, так как при обзоре и обдумывании полученных до сих пор результатов совершенно ясно чувствуется, что мы захватили их в своем изложении как бы в самом процессе работы. Митогенетические методы не только не сказали здесь своего последнего слова, но скорее наоборот: новые методы, являющиеся результатом работы последних лет, остаются еще почти неиспользованными.

Мы имеем в виду главным образом два из них: метод селективного рассеяния и метод деградационного излучения.

Первый был использован нами пока лишь для обнаружения и отождествления нескольких радикалов и групп в молекулах. Но возможности его применения почти необозримы. Благодаря чрезвычайной чувствительности метода удастся обнаружение веществ, представленных в сложных системах в ничтожных концентрациях. При этом можно предположить, что при определенных, осторожных примерах применения метода, в систему не вносятся никаких повреждений и поэтому возможен будет анализ не только мгновенного состояния системы, но и протекающих в ней процессов, т. е. их кинетика.

Само собой разумеется, что метод селективного рассеяния применим не к одним лишь радикалам, а к любому способному флюоресцировать веществу или его флюорофорной группе.

При комбинированном применении метода сенсibilизированной флюоресценции с методом рассеяния может быть составлен богатый атлас спектров флюоресценции биологически интересных веществ и их отождествления в сложных системах.

Таким образом, в перспективе открываются новые пути многостороннего излучения метаболизма, включая, конечно, и почти недоступную в настоящее время исследованию последовательность отдельных этапов ферментативных процессов.

Метод деградационного излучения представляется нам еще более многосторонним и плодотворным, чем метод селективного рассеяния. Областью его будущего применения явится, по нашему мнению, проблема координации и взаимодействия отдельных систем и органов целого. При современных физиологических методах обнаружение реакции какой-либо системы А на изменения в совершенно посторонней ей на первый взгляд системе В ограничено довольно грубыми и мало чувствительными приемами. Функция системы А должна претерпеть в положительном случае макроразменение.

Эволюция деградационных спектров открывает нам, как мы знаем, уже и микрореакции, и этим создается совершенно новое положение вещей. Для установления связей между далекими друг от друга и функционально на первый взгляд независимыми системами вполне достаточно было бы установления самого факта микрореакции, т. е. изменения деградационного спектра системы А при функциональном изменении системы В.

При этом необходимо, однако, оговориться.

Мы вправе лишь утверждать, что открываются новые возможности для установления связей и координации по времени между отдельными системами организма, но это еще вовсе не значит, что новые, неизвестные физиологии связи будут таким путем действительно обнаружены. Какое-либо предсказание было бы здесь рискованным. Исключение здесь возможно, как нам кажется, лишь для центральной нервной системы. При изучении топографии локализации возбуждений функциональных связей в пределах коры полушарий и мозжечка одинаково важны и интересны и положительные, и отрицательные результаты деградационного анализа, т. е. установление или отрицание тех или иных связей.

Но и помимо дальнейшего развития двух сравнительно новых и мало использованных методов, далеко не исчерпаны возможности и в тех проблемах, которые не задеваются ими непосредственно. Одно из важнейших завоеваний митогенеза — феномен обогащения ферментов (образование ферментондов) и основанные на нем данные из области патогенеза и терапии психозов — находится, строго говоря, в первой стадии изучения. Трудно в настоящее время обозреть все возможности, которые могут быть реализованы в этой области самыми простыми приемами. Прежде всего необходимо получить какой-нибудь из ферментондов в количестве и концентрациях, достаточных для обнаружения его действия химическими методами исследования, а если возможно, и для выяснения химического строения этих тел. Принципиальных трудностей по этому пути не существует, необходимо лишь соответственное оборудование и затрата средств.

Едва ли нужно указывать на то, насколько мало исчерпана в митогенетическом отношении проблема рака. Вопрос о «гасителях» находится еще в самой начальной стадии своего развития и представляет поэтому обширное поле для дальнейшего митогенетического анализа. Но все перечисленные частные проблемы уступают в своем принципиальном значении новому, обнаруженному митогенезом общебиологическому принципу — участию в качестве чисто физиологического фактора в основных жизненных проявлениях ультрафиолетовых фотонов, т. е. высоконцентрированного вида энергии.

Будут ли когда-нибудь, хотя бы в слабой степени, реализованы намеченные нами перспективы, трудно в настоящее время предсказать. Помимо необходимых для этого средств и материальных возможностей, в еще большей мере необходим какой-то психический перелом научных кругов в отношении к митогенезу, перелом, признаки которого пока еще незаметны.

ТЕХНИКА МИТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Из изложения методических предпосылок вытекает, что подробные технические указания, необходимые для самостоятельной работы, уместны лишь для двух детекторов — эпителия роговицы лягушки и дрожжевых культур на агаре.

1. Роговица лягушки

В качестве детектора глазами лягушки наиболее удобно пользоваться или на живой, или приблизительно через 25—30 минут после декапитации; голова сохраняется этот промежуток времени во влажной камере. После обычной для большинства источников излучения экспозиции в 3—5 минут голова немедленно фиксируется целиком, и облученный и необлученный глаза энуклеируются лишь после фиксации.

Наиболее удобна фиксация в 70° спиртке с 5% уксусной кислотой. Длительность пребывания в растворе 20 минут, после этого промывание в большом количестве воды, энуклеация и отпрепаровка роговицы, требующая большой осторожности и искусства. Окраска проводится лучше всего в разбавленном растворе гемалауна и не должна быть слишком интенсивной, так как на сравнительно светлом фоне неделящихся клеток митозы выделяются с особенной ясностью. После обезвоживания и проведения через ксилол в бальзам роговица острыми ножницами разрезается на 4 квадранта и подводится под покровное стекло. Подсчет митозов необходимо производить с иммерсионной системой и иметь при этом в виду, что они расположены почти исключительно в глубоком, герминативном слое эпителия.

При оценке эффекта необходимо принять во внимание данные Пономаревой, изложенные в главе 7, из которых вытекает, что в зависимости от длительности и интенсивности облучения на отрезанной голове возможен или ярко выраженный плюс-эффект, или такой же резкий минус-эффект.

2. Дрожжевые культуры на агаре

Свыше 12 лет мы пользуемся исключительно винными расами дрожжей — мускат или пизбили. Бывшая первоначальной в ходу раса «Nadsonia» нами совершенно оставлена из-за ряда неудобств. Винные дрожжи обладают двумя драгоценными свойствами, делающими их незаменимыми.

1. Выработывая высокие концентрации алкоголя при своем брожении, они тем самым очень успешно борются с бактериальными инфекциями. Поэтому в некоторых стадиях работы зараженные культуры при соблюдении элементарных, порой даже не особенно строгих, правил стерильности крайне редко.

2. Еще более важна их лишь факультативная термофильность. Хотя оптимальной температурой для их быстрого роста следует считать 25—38°, они вполне удовлетворительно растут и при более низкой комнатной температуре, приблизительно до 15°. Для использования дрожжей в качестве детектора низкая температура комнаты в момент облучения даже благоприятна.

Для длительного сохранения культур (так называемых штаммов) необходимы некоторые специальные условия.

Косой агар готовится на питательной среде, разбавленной в 3 раза (1 : 2 воды) по сравнению с нормальной (см. ниже); 20% раствор агара стерилизуется в пробирках 15 минут при 1 атм. (не больше!) и скашивается перед застыванием. Платиновой петлей, конечно, при соблюдении полной стерильности наносится дрожжевой материал, взятый с такой же приблизительно двухнедельной культуры. Если такие пассажи не удается проводить каждые 2 недели, старые культуры для полного возрождения приходится пассировать несколько раз с промежутками в несколько дней.

Для приготовления так называемой «рабочей» культуры, т. е. детектора, в случае, если был перерыв в работе и надо начинать заново, больше всего подходят двух-трехнедельные культуры на косом агаре.

Некоторое количество налета объемом в 2—3 капли растирают в 10—12 см³ нормальной питательной среды (см. ниже) и дают отбродить в термостате (25—28°) в течение 1—2 дней, после чего заливают его чашку Петри с приготовленным на нормальной среде агаром. Чашка Петри в свою очередь выстаивается в течение 1—2 суток в термостате, после чего она оказывается покрытой густым налетом дрожжей. Такая чашка является уже «рабочим» штаммом, оставаясь годной при комнатной температуре 3—4 дня.

С этого штамма производится засев на чашки Петри, предназначенные для работы в качестве детекторов.

Засев производится с таким расчетом, чтобы при комнатной температуре (от 15 до 20°) к началу работы культуры были не меньше 10-часового и не больше 15-часового возраста. Следует отметить, что предельный срок, равнозначный клишкой далеко зашедшему состарению культуры, имеет особенное значение лишь летом, т. е. при высокой комнатной температуре. Если же она не превышает приблизительно 15—18°, культуры остаются пригодными для работы в течение примерно 20 часов.

Приготовление взвеси для засева нескольких чашек Петри производится следующим образом.

С рабочего штамма снимается налет (удобнее всего заплавленной на конце стеклянной палочкой), равный по объему 2—3 каплям воды, и растирается в колонке или на часовом стекле с очень небольшим количеством питательной среды. Очень хорошо растертая, лишенная крупинок взвесь выливается в 20—25 см³ питательной жидкости и тщательно размешивается. Прозрачная до

тех пор жидкость (сусло) должна стать лишь умеренно мутной, отнюдь не беловатой.

Чашку Петри заливают всем количеством жидкости и, покачивая несколько раз, сливают все обратно в стаканчик. То же повторяют со следующей чашкой и т. д. Однако и при этой манипуляции остается слишком много взвеси на чашке. Для удаления излишков чашку ставят почти вертикально и тщательно оттягивают пипеткой или фильтровальной бумагой скопляющуюся у нижнего края чашки жидкость.

Для правильного прорастания налета необходимо ставить засеянные чашки Петри слегка наклонно, в противном случае избыток взвеси несколько застывает в центре чашки, где образуется почти незаметная для глаза впадина в поверхности агара.

Рост и созревание для работы культур идут лучше всего не в термостате, а при умеренной комнатной температуре. При расчете на работу в утренние часы засев всего целесообразнее производить около 12 часов ночи.

Признаком годной для постановки опытов, т. е. не слишком молодой и не слишком старой, культуры является ясный матовый, но совершенно прозрачный налет на агаре, без шероховатостей и грубой зернистости.

Ввиду того что созревание происходит при легком наклоне чашки, налет в ее нижнем сегменте обычно слишком толст и отделен довольно резко от остальной его части. Лишь последняя идет в работу.

Большая осторожность необходима при выборе подходящих для опытов отрезков агара. Если обозначить линию, соединяющую верхнюю и нижнюю точки наклонной чашки, как «меридиан», то, пользуясь этим языком, следует взять за правило выбирать два отрезка (блока) агара, из которых один будет облучаться, а другой будет использован как контроль, не только в непосредственном соседстве друг с другом, но непременно по одной «широте». Проще всего вырезать в этом направлении блок около 2 см длины и 1 см вышины и разрезать его пополам. Вырезывание блоков рационально производить в последнюю минуту непосредственно перед экспозицией, так как они сравнительно быстро подсыхают на воздухе.

а) Постановка опытов

При толщине агарового пласта в 4—5 мм блоки вполне устойчивы в вертикальном положении на горизонтальной стеклянной пластинке. Блок-детектор устанавливается на расстоянии 1 см от поверхности источника излучения, контрольный — где-нибудь в непосредственном соседстве с первым, при обязательном соблюдении одинакового положения относительно источника освещения комнаты (окна¹ или лампы). Во время опыта в комнате не должно быть

¹ Избегать открытого окна (ультрафиолет солнца!).

тазового или спиртового пламени, содержащего ультрафиолетовое излучение.

Если между источниками излучения и детектором находится диск с секториальными вырезами и детектор во время опыта обветривается, необходимо подвергнуть и контрольный блок одинаковым условиям обветривания, расположив его против другого участка диска. Непосредственно после экспозиции оба блока помещаются в небольшой стеклянной камере (пустой чашке Петри) в термостат при 25—28° или оставляются при комнатной температуре (около 18°). В первом случае срок инкубации не должен превышать 1½ часов, во втором — 2 часов. Это предписание имеет чрезвычайную важность.

Как показали специальные исследования (Кураев), к 2 часам в термостате эффект индукции резко падает и сходит практически на-нет. Чрезмерно длительная выдержка (минимум 2 часа), практиковавшаяся некоторыми желающими проверить нас авторамп, привела их, естественно, к отрицанию существования эффекта¹.

По истечении срока инкубации приступают к изготовлению препаратов. Предметные стекла готовятся так же, как и для гистологических препаратов, т. е. смазываются ничтожными следами белка, на котором хорошо растекается капля дистиллированной воды.

Платиновой петлей снимается некоторое количество дрожжевой пленки с агарового блока, при этом не с ограниченного участка, а в виде широкого штриха, захватывающего всю поверхность, и тщательно растирается в капле воды по возможно широкому участку предметного стекла. Чем дольше и тщательнее растирается дрожжевой комоч, тем лучше рассыпаются по стеклу мелкими группами или отдельными особями дрожжевые клетки. Подсушивание препарата производится или при комнатной температуре, или в струе сухого горячего воздуха (так называемого «фена»).

После полного высушивания препарата его фиксируют обычным методом через пламя. Окраска лефлеровской метиленовой синью или, проще, водным раствором Toluidinblau.

Наилучшей нормальной питательной средой для вишних дрожжей является неохмеленное пивное сусло от 15 до 20 баллингов сахаристости. Стерилизация производится в колбах на текучем пару обычным фракционированным способом по 30 минут каждый день в течение 3 дней подряд.

Сухой агар добавляется в количестве 1,5—2% по весу к холодному суслу и после набухания растворяется на текучем пару. Во избежание необходимости стерилизации агарового раствора его готовят обычно в небольших количествах, рассчитанных на 2—3 дня. Поэтому пребывание в текучем пару до полного растворения (но не дольше; в противном случае агар приобре-

¹ Приведенные здесь сроки были в ходу в нашей лаборатории до последнего времени. В настоящее время они изменены.

тает консистенцию мармелада и не годен к употреблению) достаточно для поддержания нужной стерильности.

Целесообразно разливать агар в чашки Петри накануне засева, так как дрожжевая культура хуже растет на свежеразлитой среде.

б) Изучение препаратов

Эффект индукции заключается в достаточно резких различиях в количестве почкующихся клеток в облученной и контрольной культуре. В основе метода лежат, таким образом, определенные правила подсчета почек.

При разработке или установлении таких правил можно руководствоваться или теоретическими соображениями или эмпирикой. К сожалению, нашей лаборатории, бывшей инициатором метода, пришлось идти последним путем, и так как почти непосредственно был найден критерий, приводящий к воспроизводимым и поэтому достоверным результатам, то вполне естественно, что дальнейший многолетний опыт лаборатории накапливался именно на основе чисто эмпирического, полученного опытным путем метода и вполне надежные технические указания и правила мы в состоянии дать лишь в этом направлении.

Однако, считаясь с возможностью, что приступающие к работе в области митогенеза захотят идти более рациональным путем, мы посвятим несколько слов изложению данных, которые нам не были известны в начале нашей работы.

Прежде всего казалось необходимым установить два основных параметра почкования дрожжевых клеток — длительность всего жизненного цикла и продолжительность так называемого латентного периода, протекающего между моментом облучения и началом реактивного почкования.

Для первой величины наблюдения Барона подтвердили прежние данные, установившие для дрожжевых клеток в нормальной питательной среде при обычной комнатной температуре, что длительность всего цикла, т. е. промежуток времени между двумя почкованиями, равна 45—60 минутам.

Наблюдения Залкинда на культурах дрожжей в жидкой среде показали, что подобно тому, что было установлено для эпителия роговицы, латентный период вовсе не может быть обнаружен, так как немедленно после приблизительно 5-минутного облучения уже констатируется обычный митогенетический эффект, т. е. выраженный перевес в числе маленьких почек по сравнению с контрольной порцией.

Проведенные за последнее время в нашей лаборатории исследования Еремеева обнаружили совершенно неожиданный и практически чрезвычайно важный факт.

Наблюдаемый нами до сих пор эффект индукции после полугорачасовой инкубации и кривые Кураева относятся ко вторичному эффекту, механизм которого в настоящее время еще совершенно не ясен.

В полном согласии с данными Залкинда, полученными на культурах в жидких средах, эффект индукции может быть обнаружен и на агаровых дрожжах почти немедленно после их облучения. Удобнее всего производить фиксацию препарата через 3—5 минут после конца экспозиции. Максимальное испробованное до сих пор с положительным результатом время равно приблизительно 10 минутам, при этом необходимо, однако, значительно сократить время облучения, примерно в 15—20 раз (вместо 5 минут — 15—20 секунд).

Мы находим, что легче всего выработать достоверный критерий подсчета почек, переходящий легко в автоматизм при счете, если считать только маленькие круглые почки, сидящие на теле материнской клетки. Почки, не удовлетворяющие этому критерию, мы уже регистрируем как клетки.

Неоднократно делались попытки использования совершенно иных норм, например, подсчета всех почек, явно уступающих по величине материнской клетке. Наиболее многообещающей по своей простоте попыткой следует считать подсчет всех одиночных и двойных клеток в препарате, исходя при этом из представления, что связанные пары клеток указывают на то, что почкование только что закончилось, одиночные же клетки отпочковались раньше.

Против всех этих попыток облегчить критерии подсчета возражения были бы, конечно, совершенно неуместны. Весь вопрос в том, насколько они могут оправдать себя, и для выяснения его требуется очень большая затрата времени и материала.

При подсчете почек необходимо соблюдать некоторые правила предосторожности. Достаточный клеточный материал, например, 2 000 клеток, которые обыкновенно используются при подсчете, необходимо набирать не из одного какого-либо ограниченного участка стекла, а по возможности из обширной площади. Следует избегать больших, густо скученных клеточных групп, в которых подсчет почек может оказаться не вполне достоверным¹.

Но надо взять себе, конечно, за правило считать всегда в поле зрения или, если данное поле зрения содержит какой-либо технический изъян, пропускать его целиком. Подсчет необходимо производить иммерсионной системой.

¹ Примечание при корректуре. Ввиду того что при подсчете 2 000—3 000 клеток из общего рассеянного на большой площади числа во много десятков тысяч возможен некоторый произвол в выборе полей зрения, рационально введенное нами за последнее время по предложению проф. В. Е. Лошкарева предложение производить выборку полей зрения при помощи крестовидного столика на расстоянии 1 мм друг от друга. При этом рационально использование возможно широкой площади препарата, захватывающей не меньше 20 мм в длину и всю ширину предметного стекла. Подсчитывается таким образом не меньше 40 полей зрения.

ЛИТЕРАТУРА

Приводится лишь новая литература, начиная с 1935—1936 года

Asqua C., Raggi mitogenetici, Boll. R. staz. sperim. Gelsi e Bachicoltura, 12, 157 — 161, 1933; Sulla eventuale emissione di raggi mitogenetici, capaci d'impressionare la lastra fotografica durante lo sviluppo delle uova di Bombyx mori L., ibidem 14 159 — 164, 1935. — Audubert R., Emission de rayonnement par les réactions chimiques, J. chim. physique, 33, 507 — 525, 1936; Sur le mécanisme d'émission de la lumière par les réactions chimiques, C. r. Ac. Sc., 202, 406 — 407, 1936; Die Strahlung bei chemischen Reaktionen, Document. Sci., 5, 207 — 274, 1936; Etude de l'émission de rayonnement ultraviolet au cours de la décomposition lente des azotures J. chim. physique, 34, 405 — 415, e 615, 1937; Sur l'énergie d'activation des réactions photogéniques accompagnant la thermolyse des azotures, C. r. Ac. Sc., 204, 1192 — 1194, 1937; Sur les spectres d'émission ultraviolet de la dissociation thermique lente de l'azoture d'argent, C. r. Ac. Sc., 205, 133 — 135, 1937; Sur le spectre d'émission ultraviolet de la dissociation thermique lente de l'azoture de sodium, C. r. Ac. Sc., 206, 748 750, 1938. Die Emission von Strahlung bei chemischen Reaktionen, Z. angew. Chemie, 51, 153 — 163, 1938; Emission of ultra-violet rays by chemical reactions, Trans Faraday Soc., 35, 197 — 206, 1939. — Audubert R. et Maittier J., C. r. Ac. Sc., 205, 1005, 1938; Action des gaz sur les réactions photogéniques accompagnant la thermolyse de l'azoture de sodium, C. R. Ac. Sc.; 203, 1939 — 1641, 1938. — Audubert R. et Mourour H., Etude de l'émission du rayonnement ultraviolet au cours de la décomposition lente des azotures, C. r. Ac. Sc., 204, 431 — 432, 1937. — Audubert R. et Otakar V., Emission de lumière ultraviolette pendant l'oxydation anodique de l'aluminium, C. r. Ac. Sc., 202, 1504 — 1506, 1936; J. chim. physique, 34, 18 — 27, 1937. — Audubert R. et Prost M., Sur le rayonnement émis dans la déshydratation et l'hydratation et du sulfate de quinine, C. r. A. Sc., 202, 1047 — 1049, 1936. — Audubert R. et Racz Ch., Emission de rayonnement ultraviolet et thermolyse de l'azoture de thallium, C. r. Ac. Sc., 208, 1810 — 1811, 1939. — Audubert R., et Ralea R., Effet phytonique et activation électronique du radical N-N., C. r. Ac. Sc., 209, 983 — 985, 1939. — Audubert R. et Verdier E. T., Sur l'émission du rayonnement ultraviolet par l'électrolyse de solutions d'acide azoturique et d'azoture de sodium., C. r. Ac. Sc. 208, 1984 — 1986, 1939 — Барт, Физическое исследование к вопросу митогенетического излучения, Архив биологических наук, 46, 153 — 177, 1937 — Barth H. u. Glasser O., Weitere Studien zum Problem der mitogenetischen Strahlung, Radiology, 33, 25 — 33, 1939. — Белов Г. Н., Стоячие волны митогенетического излучения нервного ствола, Архив биологических наук, 47, 146 — 151, 1937; Données expérimentales sur les „periodes“ et les „ondes stationnaires“ du rayonnement mitogénétique des nerfs, Ann. physiol., 14, 200 — 205 1938. — Булиг Е. С., Митогенетический спектральный анализ излучения при коагуляции белка алкоголем, Бюллетень биологии и экспериментальной медицины СССР, 5, 314 — 315, 1938. — Богданович В. и Лозарис Ю., Анализ причин исчезновения митогенетического излучения крови раковых животных, Экспериментальная медицина, 32, 40, 1935; 83 — 86, 1937. — Брайнес С. Н. и Гальперин С. И., Митогенетическое излучение симпатического нерва кошки. Физиологический журнал, 17, 81 — 83, 1934. — Брайнес С. Н., Митогенетическое излучение центральной нервной системы кролика, Бюллетень биологии и экспериментальной медицины СССР, 10 — 11, 1936; Analysis of mitogenic blood radiation in mental disorder

as basis for therapy, J. nerv. a. mental diseases, 86, 24 e. 175, 1937. — Brenner W., Ist das Hohnhaarepithel des Frosches geeignet zum Nachweis mitogentischer Elutsstrahlung? Bioch. Zschr., 292, 423 — 433, 1937. — Bromley N. W. u Irichimowitsch A. D. Die Veränderungen in der Intensität der mitogentischen Ausstrahlung während der Mauser, Biologia generalis, a. IV, fasc. II, 49 — 59, 1936. — Buehgraber J., Radiation mitogentique et virulence des bactéries, Radiobiologia generalis, a. IV, fasc. III, 7 — 13, 1936. — Букатина А. А., Обратимость морфологических изменений, вызываемых митогенетическим облучением в дрожжевых клетках, Бюллетень биологии и экспериментальной медицины СССР, 5, 39, 40, 1938. — Canonico A., Studio sperimentale riguardante l'azione delle radiazioni mitogentiche del Gurwitsch sulla schiusura estemporanea del seme bachi, BcII, R, staz, sperim. Gelsi e Bachicoltura, Asceli Piceno, 12, 179 — 206, 1933. — Cassata C., Azione dei raggi mitogentici sullo sviluppo delle uova di Ancylostoma duodenale, Giorn. batt. e immunit., 17, 558 — 660, 1936. — Castaldi L., Stato attuale delle questioni sull'effetto Gurwitsch*, Mon. zool. Ital., 50, 165 — 176; Atti dell VI Congresso nazionale di radiobiologia, Torino, 1939, 173 — 184, 1940. — Castaldi L. e Maxia C., A proposito di una critica all' induzione „mitogentica“, Scritti biologici, 13, 117 — 123, 1938; BcII Soc. ital. biol. sperim., 13 1010 — 1011, 1938. — Шастин Н. П., О роли яичников в митогенетическом излучении крови, Хирургия, № 9, 144 — 146, 1938. — Ciferri R., Il problema dei raggi mitogentici, Scientia, 33, IV S., 98 — 105, 1939. — Ciferri R., Barbensi G. e de Lucchi G., Analisi biometrica di colture monoclitogenetiche di lieviti e di esperienze di induzione mitogentica Rivista di biologia, 28, 386 — 432, 1939. — Constantini Th., Mitogènesè et colchicine dans la racine d'oignon, Bull. d'hist. appl., 17, 97 — 108, 1940. — Deker G., Über die Schäfe mitogentischer Spektren, Protoplasma, 25, 515 — 527, 1936. — Drigo A., La radiazione mitogentica nei risultati ottenuti coi rivelatori fisici, Atti Istituto Veneto sc., lett. e arti, 96, 643 — 657, 1937; Contatti di fotoni e lastre fotografiche nella rivelazione di deboli intensità luminose, ibidem, 97, 1 — 36, 1938. — Drigo A. e Barbieri A., Sulla rivelazione con mezzi fisici della radiazione mitogentica, La ricerca scientifica, S. 2, vol. 2, 116, 1937; Risultati della rivelazione con mezzi fisici della radiazione mitogentica, Radiologica, Bd. II, 161 — 165, 1939. — Drigo A. e Cappellin M., Sulla possibilità di rivelare radiazioni elettromagnetiche attraverso modificazioni degli anelli di Liesegang in formazione, Atti R. Istituto Veneto sc., lett. e arti, 97, 267 — 279, 1938. — Eiger L., Die Bedingungen für die photographische Aufnahme der Gurwitschen Strahlen Cas. lek. čes, 418 — 421, 1932; Photographie der Gurwitschen Strahlen, ibidem, 833 — 837, 1932. — Engel E. L. Über die mitogentischen Erscheinungen an monomolekulären Filmen, Protoplasma, 26, 311 — 337, 1936. — Faguet M., Rayons mitogentiques et multiplication microbienne. C. r. Soc. biol., 128, 969 — 971, 1938. — Ferri U., Studio sulle radiazioni mitogentiche del sangue nei bambini, La ricerca scientifica, 4, 81 — 107, 1933. — Филипов М. В., Об измерении митогенетического излучения с помощью фото-электронного счетчика, Архив биологических наук, 46 № 3, 11 — 22, 1937; L'emploi de détecteurs biologiques pour l'analyse spectrale du rayonnement émis par le sel gemme après l'irradiation par les rayons X, Acta physicochim. URSS, 10, 725 — 728, 1939. — Friedheim E. A. H., Über die Wirkungslosigkeit mitogentischer Strahlung auf das Wachstum von Gewebekulturen, Arch. sci. phys. natur., 21, 35 — 36, 1939. — Gerlach W., Über die „mitogentische“ Strahlung, Naturwiss., 25, 585 — 588, 1937. — Giordano G., Un artificio di tecnica per la determinazione del potere eccito-moltiplicatore del sangue, Scritti Ital. Radiobiol. medica, II, 255 — 257, 1935. — Glasser C. a. Barth H., Studies on problem of mitogentetic radiation, Radiology, 30, 62 — 67, 1938. — Grebe L., Krost A. u Peukert L., Versuche zum physikalischen Nachweis der mitogentischen Strahlung, Strahlentherapie, 60, 575 — 581, 1937. — Григорьевич Т. и Лагутина П., К методу определения митогенетического излучения, Бюллетень биологии и экспериментальной медицины, 1, 391 — 392, 1937. — Gurwitsch Al., G., Mitogentetic analysis of the excitation of the nervous system, N. V. Noord-Holl. Uilegever maat., Amsterdam, 1937; Некоторые проблемы митогенеза, Арх. биологических наук, 46, 3 — 10, 1937. — Гурвич Анна, Интенсивность митогенетического излучения в различных частях кортикальной зоны кролика при адекватном возбуждении, Бюллетень биологии и экспериментальной медицины, 2, 12 — 13, 1936; Les phénomènes mitogentiques de l'écorce cérébrale, Ann. physiol., 24, 182 — 199, 1938. — Гурвич Ал. и Лидия,

Новые перспективы митогенетического спектрального анализа, Бюллетень биологии и экспериментальной медицины 4, 461—464, 1937; Деградиационное митогенетическое излучение. Бюллетень биологии и экспериментальной медицины 4, 455—460, 1937; Об обогащении ферментов за счет аминокислот, Бюллетень биологии и экспериментальной медицины 5, 411—413, 1938; Über Anreicherung (Neubildung) von Fermenten auf Kosten von Aminosäuren, *Enzymologia*, 5, 17—25, 1938; Über die Eigenart der Blutermente carcinomatöser (Blutermente und Löscher), *Enzymologia*, 5, 16—33, 1938.—Идем, Тушицкий в раковой крови, его диагностическое значение и „антигистамин“, *Архив биологических наук*, 51, 40—44, 1939; *Acta med. URSS*, 2, 122—126, 1939; Ultra-violet chemi-luminescence, *Nature*, 143, 1022, 1939; Anregung von Polymerisationsvorgängen durch mitogenetische Bestrahlung, *Acta physicochimica URSS*, 10, 711—718, 1939.—Gurwitsch A. u. L. u. Sliussarew A., Deutung der mitogenetischen Strahlung als „sensibilisierte Fluoreszenz“ (Eine experimentelle Bestätigung der Theorie der mitogenetischen Strahlung von Frankenburger), *Acta physicochimica URSS*, 10, 719—724, 1939.—Gurwitsch L. u. Salkind S., in *Atti del Congresso della lotta contro il cancro di Bruxelles*, 1937, vol. II.—Hammer M., La valeur de la méthode mitogénétique dans le diagnostic du cancer, *Revue franç. de gynéc. et obst.*, 34, 225—231, 1939.—Гариг А. Е., Митогенетическое излучение и ауксин, Бюллетень биологии и экспериментальной медицины 2, 101—103, 1936.—Haur F. v., Über mitogenetische Strahlung. Nach Versuchen von Karlick und Petri, *Strahlentherapie*, 58, 306—318, 1937.—Hollaender A., in: Duggar B. M., *Biological effects of radiation*, pag. 919, London, Mc Gram Hill, 1936; The present status of mitogenetic radiations, *Radiology*, 32, 404—410, 1939.—Hollaender A. a. Claus W., An experimental study of the problem of mitogenetic radiation, *Bull. no 100 of the Nat. Res. Council, Washington, D. C.*, 1937.—Июффе А. И. и Биллиг Е. С., Применение бактериологического детектора в митогенетических исследованиях, *Архив биологических наук СССР*, 40, 5—22, 1935.—Jeanney G. Wandermez C., Ladignac et Labali, La radioactivité des tissus néoplastiques; valeur des anneaux de Liesegang comme système détecteur, *Arch. de l'éctr. méd.*, 46, 230 et 257, 1938.—Канегисер Н., Митогенетические свойства канцерогенных веществ. Бюллетень биологии и экспериментальной медицины, 3, 554—556, 1937.—Kawamura K., Vitamin C and „mitogenetische Strahlen“. Okayama-Igakka-Zasshi, 50, 147, 1939.—Klenitzky J., Die mitogenetische Strahlung des Collumcarcinoms, *Zschr. f. Krebsk.*, 39, 60—65, 1933.—Кленицкий И., Влияние родового акта на митогенетическое излучение крови, *Журнал акушерства*, 45, 322—325, 1934.—Kolle H. W., Über das Verhalten der photographischen Emulsion der Belichtung mit sehr schwachen Ultraviolet Licht, *Fundamenta radiologica*, Bd. IV, 19:9.—Конюми Т., Studies on blood glycolysis, Effect of hexokinase on the mitogenetic ray due to blood glycolysis, *Fukuoka Acta medica*, 29, 38, 1936.—Красовская Е. Н. и Веллер Н. С. О нестойкости митогенетического излучения крови, *Архив биологических наук*, 41, 143—150, 1936.—Krost A., Über den Nachweis der mitogenetischen Strahlung mittels eines Spitzlichtzählers, *Bonn, Diss.*, 1937 (1936).—Левина Р. И., Восстановление митогенетического излучения крови раковых мышей, *Врачебное дело*, 20, 507—512, 1938.—Levy R. et Audubert R., Emission de rayonnement par les oeufs de *Discoglossus* au cours de développement, *C. r. Ac. Sc.*, 201, 236—239, 1935; *Protoplasm*, 25, 25—31, 1936.—Liosner L. D. u. Woronzowa W. A., Über den Einfluss des Regenerationsprozesses eines Teiles des Organismus auf die Regeneration seiner anderen Teile, *Radiobiologie*, vol. I, fasc. III, 29—41, 1934.—Lominsky I., Action à distance du bactériophage staphylococcique sur le staphylocoque, *C. r. Ac. Sc.*, 199, 168—170, 1934.—Luher M., Über die Wirkung von Gewebsextrakten krebserkrankter Tiere und Menschen auf die Wachstumstätigkeit von Hefekulturen, *Zschr. Krebsforsch.*, 49, 404—410, 1939.—Magrou J., Action à distance de l'oxydation diastatique de d'hydroquinone sur le développement de l'oeuf d'oursin, *C. r. Soc. biol.*, 118, 763, 1935.—Magrou M. et J., Action à distance de l'oxydation diastatique de l'hydroquinone sur le développement de la motilité animale de l'oeuf d'oursin, *C. r. Soc. biol.*, 121, 801, 1935; Action à distance de l'oxydation diastatique de l'hydroquinone sur l'oeuf d'oursin traité par le lithium, *C. r. Soc. biol.*, 121, 955, 1936.—Malucelli P., Contributo allo studio delle radiazioni del Gurwitsch, *Boll. R. staz. sperim. Gest. e Bachicoltura, Ascoli Piceno*, 13, 118—133

1934.—Марковский Ю. Митогенетическое излучение крови при туберкулезе, Клиническая медицина, 9, 444—449, 1931.—Maxia C., I foroscontatori nello studio della chemio- e bioluminescenza: l'effetto Gurwitsch, Atti dal V congresso de chimica pura e applicata, 798—808; Sardegna, 1935; L'effetto Gurwitsch e i suoi rivoltatori (relazione), Atti del I congresso dei ductei Italiani di Radiobiologia, Bologna, 1935 (Bologna, Zanichelli, 1937; Controlli statistici alle ricerche biologiche sull'effetto Gurwitsch. Boll. Soc. ital. biol. sperimentale, 14, 442—443, 1939; Fundamenta radiologica, 5, 165—167, 1910, Agiscono i raggi ultravioletti sugli anelli di Liesegang? Boll. Soc. ital. biol. sperim., 14, 444—445, 1939.—Meitrowsky L., L'azione dei raggi U. V. sul potere radiante del sangue dei bambini, Atti I Congresso Intern. di elettro-radiobiologia, vol. II, 876—878, Venezia, 1934.—Мионов С. и Кривостоя. Митогенетическое излучение крови. I. О двойном методе исследования. Вестник рентгенологии, 15, 440—448, 1935.—Мойсеева М., Современное положение проблемы митогенетического излучения. Биологический журнал, 6, 437—452, 1937; Дрожжи как детектор митогенетического излучения, II. Журнал Института ботаники Академии наук СССР, № 11, 73—89, 1937 (на украинском языке).—Moschini S., Rapporto tra potere radiante e riversa alcalina in talune malattie del bambini, Radiobiologia, vol. I, fasc. III 9—18, 1933—Naville A., Recherches statistiques sur le carcinomase sous l'influence de divers facteurs, Arch. biol., 48, 1—78, 1937.—Новиков М. Б., Влияние питательных веществ на митогенетическое излучение «истощенной культуры», Бюллетень биологии и экспериментальной медицины, 4, 465.—468, 1937.—Нудольская О. Е. Митогенетическое излучение крови и его значение в ранней диагностике, Архив гинекологии, 163, 30—49, 1936; Акушерство и гинекология, 551—568, 1936.—O'dani Sh., A gynecological study on Gurwitsch's mitogenetic radiation. I. On the carcinoma uteri, Jap. f. obst. a. gynec., 20, 100—108, 1937; II. On the blood and the urine in the patients of carcinoma uteri, Ibidem, 20, 109—116, 1937; III. The physical studies of Gurwitsch's mitogenetic radiation, Ibidem, 20, 117—129, 1937; IV. Can Gurwitsch's mitogenetic induction effect be caused by irradiation with a small quantity of X-rays? Ibidem, 20, 130—139, 1937; V. Experiments with artificial lights of corresponding wavelength of mitogenetic rays, Ibidem, 20, 140—145, 1937.—Okada T. u. Arai H., Über die Lichtproduction des Leuchtkäfers, III. Mitt., 3. Abt., Über das Problem der mitogenetischen Strahlen beim Leuchtkäfer, Akad. Kioto, 21, 643—656, 1937.—Пономарева Ю. Н., Митогенетическое и термическое влияние на ритм митоза переживающих клеток, Бюллетень биологии и экспериментальной медицины 2, 11—15, 1936.—Potozky A., Cycle g'évolution des moisissures sous l'influence de l'irradiation mitogénétique, Ann. Inst. Pasteur., 57, 193—203, 1936.—Protti G., Effetti fotografici intraorganici, Radiobiologia. I. fasc. II, p. 61—65, 1932; Sulla possibilità di valutare l'intensità dei raggi di Gurwitsch mediante la riduzione del gelatino bromato di argento, Atti Soc. ital. progresso sc. 22.ª riunione Bari, 1933, vol. III, p. 92—83; e Radiobiologia generalis, vol. IV, fasc. 41—48, 1936; L'opinione di un medico sopra i „raggi mitogenetici“, Nuntius radiologicus v. VI, fasc. IV, 1938.—Rabinerson A. u. Filippov M., Emission von kurzwelligen ultravioletten Strahlen bei Strukturbildung. I. Strahlung bei typischer Koagulation, Acta physiochim. URSS, 8, 419—410, 1938; Emission von kurzwelligen ultravioletten Strahlen bei Strukturbildung. I. Strahlung bei typischer Koagulation Acta physiochim. URSS, 9, 208, 1939.—Rabinerson A. u. Wladimirska ya M., Sur le rayonnement mitogénétique accompagnant la neutralisation des acides et des bases fortes; Acta physiochim. URSS, 11, 403—408, 1939.—Rahn O., in: Tabulae biologicae, 14, pars I, 1—34, 1937.—Rasetti F., L'opinione di un fisico sopra i „raggi mitogenetici“. Nuntius radiologicus, VI, fasc., 1938.—Рылова М. Л., Митогенетическое исследование крови при работе и утомлении. Физиологический журнал СССР, 20, 594—500, 1936.—Salkind S., Der Einfluss langdauernder mitogenetischer Bestrahlung auf die Morphologie der Hefezellen, Protoplasma, 27, 69—72, 1935; Die Unentbehrlichkeit der mitogenetischen Strahlung für die Zellteilung, Protoplasma, 20, 194—202, 1937; О влиянии температуры на размножение и митогенетическое излучение жидкой дрожжевой культуры, Бюллетень биологии и экспериментальной медицины СССР, 3, 406—410, 1937; Митогенетическое излучение необходимо для деления клеток, Архив биологических наук, 47, 153—160, 1939; Der gegenwärtige Stand des mitogenetischen Problem, Protoplasma, 28, 435—468, 1937; Nachtrag zu dem Sammelreferat: der gegenwärtige Stand des mitogenetischen Problem, Protoplasma, 29, 425—

426; 1937; Salkind S. u. Nowikoff M. B., Über langlebige Einwirkung mitogenetischer Strahlen auf die Heffezellen, *Protoplasma*, 26, 577—586, 1936; Тушинель митогенетического иллучения в тканях раковых животных, *Архив биологических наук*, 51, 45—55, 1938; *Acta Medica USSR*, 2, 127—131, 1939. — Salvadori Paleotti G., Contributo allo Studio delle radiazioni mitogene generate da alcune reazioni chimiche a mezzo di un nuovo apparecchio. *Radiol. e fisica medica*, In: Balli R., *Trattato di Radiobiologia*, vol. III, pag. 1209—1303, Universitas, Roma, 1939. — Зарх М. Н., Митогенетическое иллучение мочи и ее зависимость от физической работы, *Физиологический журнал СССР*, 17, 1035—1038, 1934. — Saartozzi C., Le variazioni della resistenza organica causate dall'intervento chirurgico indagate con lo studio del potere radiante del sangue, *Riv. di patologia speriment.*, 7, 402—415, 1937. — Schreiber H., Über die Eignung der photographischen Platte zum Nachweis und quantitativer Messung der mitogenen Strahlung. *Bemerkungen zur vorstehenden Arbeit von H. W. Kollé*, *Fundamenta radiologica*, 4, 132—140, 1939. — Schwartz J., Untersuchungen über die Gurwitsch-Strahlung der Cornea, *Arch. Augenheilk.*, 110, 216—235, 1936. — Siebert W. W., u. Seffert H., Zum Nachweis der mitogenetischen Strahlung mit Hilfe des physikalischen Differenzverfahrens, *Bioch. Zschr.*, 287, 92—103, 1936. Ein neues Verfahren für den biologischen Nachweis der mitogenetischen Strahlung, *Bioch. Zschr.*, 287, 104—108, 1936; Blutgruppen und Flußstrahlung, *Bioch. Zschr.*, 287, 109—112, 1936; Zur Frage der Blutstrahlung bei Krankheiten insbesondere bei Geschwulsten, *Vorl. Mitteilung Bioch. Zschr.*, 289, 292—293, 1937; Die Blutstrahlung und die Auslöschung mitogenetischer Strahlen bei Krankheiten, *Bioch. Zschr.*, 301—314, 1939. — Storti e De Filippi P., Azione a distanza esplicata dal sangue e dai tessuti di emopatici sul midlo osseo, *Radiobiologia generalis*, vol. IV, fasc. III, 15—48, 1936; Il potere radiante del sangue e dei tessuti di alcune forme emopatiche, *Radiobiologia generalis*, vol. IV, fasc. IV, 40—66, 1936; *Riforma med.*, 52, 639—641, 1936; Das Verhalten des Strahlungsvermögens des Blutes und den blutbildenden Gewebe bei einigen Blutkrankheiten, *Wien. klin. Wschr.*, II, 1494—1496. — Sugiyama Massao, Studies on mitogenetic radiation. II. Yeast cells as detector, *Fac. of Sc. Univ. Tokyo*, IV, 5, 1—6, 1938; Studies on mitogenetic radiation. III. Experiments with sea urchin eggs, *Ibidem*, IV, 5, 7—9, 1938. — Sulman F., Variationen bei Bakterien. I. Experimentelle Versuche zur Steigerung der BCG. Virulenz durch Dissociation auf Eiernährboden und durch mitogenetische Strahlung, *Zschr. Immunitätsf.*, 81, 1, 1933. — Токин Б., Анализ метода для сравнительного определения скорости почкования дрожжей, деления клеток и оплодотворения яйца, *Биологический журнал*, 2, 3—19, 1933. — Tortorelli M., Le radiazioni mitogenetiche del sangue nei disturbi del ricambio del carboidrati, *Morgagni*, 76, 1239—1241, 1934. — Чмутова А. П., Митогенетическое иллучение крови аддисон-бирмеровской ан. мин, *Клиническая медицина СССР*, 16, 1010—1014, 1938. — Verdina C., Recherches sur les radiations mitogénétiques du sang des tuberculeux, *Boll. Soc. int. di microbiologia*, Sez. Ital., vol. V, 211—218, 1933; Sul potere radiante del sangue nella tubercolosi polmonare, *Croce Rossa, Riv. sanitaria*, 9, 113—130, 1934. — Viridis F., Sul potere irradiante del sangue degli animali immunizzati, *Giorn. batteriol. e immunol.*, 16, 897—914, 1936. — Войханский Д., Лучи Гурвича (митогенетические лучи) в клинике нервных болезней, *Советская клиника*, XIX, № 105, 3—14, 1933. — Yamafuji K., Zur Biochemie des Seidenspinners, XVI, *Bioch. Zschr.*, 286, 225—228, 1936. — Zirpolo G., Sopra i raggi mitogenetici di Gurwitsch (Risposta al Prof. Franco Rasetti), *Boll. di zoologia*, 9, 159—161, 1938. — Цоглина И. В., Митогенетическое иллучение мышц при облучении двигательных нервов, *Бюллетень биологии и экспериментальной медицины СССР*, 7, 168—171, 1939. — Zolotova-Kostomarova M. L. a. Lyass M. L., Mitogenetic radiation of blood in rheumatic fever and in pneumonia, *Klin. Med.*, 14, 1629—1633, 1936.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
Введение	5
<i>Часть первая. Неорганизованные (гомогенные) системы.</i>	
Глава первая. Физические и физико-химические основы митогенетического излучения	11
А. Энергетический баланс излучения	11
В. Митогенетические спектры	27
С. Митогенетический анализ селективного рассеяния	30
Глава вторая. Фотохимические эффекты митогенетического облучения. Реакции фотосинтеза	32
Глава третья. Участие процессов фотосинтеза в образовании ферментов	40
А. Общие данные о ферментах	40
В. Аналогия между конденсатами аминокислот и ферментами	44
С. Образование ферментов за счет аминокислот	48
D. Механизм образования ферментов и участие фотонов в этом процессе	51
Глава четвертая. Реакции, сопровождающиеся излучением	57
<i>Часть вторая. Организованные (живые) системы.</i>	
Глава пятая. Общая характеристика митогенетических эффектов в организованных системах	67
Глава шестая. Физиологическая теория протоплазмы	79
А. Введение. Постановка проблемы	79
В. Общая формулировка понятия молекулярной упорядоченности в живых системах	84
С. Деградиация молекулярных констелляций и деградиационное излучение	88
1. Методы вызывания деградиационного излучения	88
а. Охлаждение и легкий наркоз	88
б. Центрифугирование	91
с. Пропускание слабого постоянного или переменного тока	91
d. Митогенетическое облучение	92
2. Взаимоотношения между действием на живые системы перечисленных факторов	93
3. Спектральный состав деградиационного излучения	93
D. Биологические процессы и неравновесные констелляции	95
1. Эволюция деградиационных спектров при физиологических процессах	95
а) Спектр деградиационного излучения слизистой оболочки пилорической части желудка (мышь)	96
б) Деградиационное излучение почки мыши	97
с) Функциональные изменения спектров деградиационного излучения печени	98
E. Неравновесные молекулярные констелляции как общая основа биологических процессов	100
P. Анализ реагирования констелляции на внешние воздействия	105

Глава седьмая. Клеточное деление	110
А. Степень зависимости клеточного деления от поглощения фотонов	111
В. Определение длительности процесса клеточного деления	113
С. Действие облучения на задержанные митозы	116
Д. Влияние подавления излучения	117
Е. Механизм митогенетического действия ультрафиолетовых фотонов	124
Ф. Некоторые соображения о процессе созревания и о течении митозов	130
Глава восьмая. Митогенетический анализ нервного возбуждения	135
А. Постановка проблемы возбуждения в классической и митогенетической физиологии	135
В. Митогенетический симптом возбуждения — излучение	147
1. Возникновение митогенетического симптома	147
а) Периферические нервы	148
а) Модуляция нервов мышцами	151
б) Мозговая кора	166
Свеговое раздражение	165
Звуковое раздражение	167
Раздражение органа равновесия	167
Болевое раздражение	168
2. Многообразие митогенетического симптома возбуждения	168
а. Периферические нервы	168
Спектры излучения	168
Периоды излучения	170
б. Мозговая кора и зрительный нерв	171
Спектры	171
Периоды излучения	172
3. Анализ субстрата излучения resp. возбуждения	176
а) Характер субстрата возбуждения мозговой коры	178
б) Субстрат возбуждения и излучения нервов	183
в) Деградиционный характер излучения нервной системы	188
4. Общие представления о характере перестроек молекулярного субстрата как доступном пока для нас выражении возбуждений	190
а) Состояния континуума в покое и при возбуждении	190
б) Анализ так называемого спокойного состояния коры	194
в) Возбуждение при болевом раздражении	194
д) Зрительное и звуковое возбуждения	195
Глава девятая. Митогенетический анализ биологии раковой клетки	199
А. Постановка проблемы	199
В. Анализ агрессивности раковой клетки	200
С. Излучение раковой клетки	201
Д. Свойства поверхностного фильма раковой клетки	204
Е. Строение поверхностного слоя и его связь с клеточным телом	207
Ф. Понятие деполяризации раковой клетки	211
Г. Особенности деления раковой клетки и зависимость от лучевого режима	215
Н. Некоторые соображения о процессе канцеризации клетки и митогенетическое излучение как этиологический фактор	220
И. Возникновение тушителя в процессе канцеризации	223
К. Гипотетическая схема процесса деполяризации	226
Л. Тушитель	234
1. Определение понятия «тушение»	234
2. Теория действия тушителей	235
3. Тушитель раковой клетки	237
4. Физико-химические свойства тушителя	238

5. Обогащение тушителя за счет аминокислот	239
6. Предпосылки и механизм действия ракового тушителя	240
Глава десятая. Подавление излучения как диагностический метод (тушители и гасители)	243
А. Митогенетический режим крови	243
В. Общее понятие о гасителях и их классификация	244
1. Эндогенные гасители	245
2. Гасители экзогенного происхождения	245
3. Способы дифференциации тушителя и гасителей	246
С. Гаситель при септических заболеваниях	249
Глава одиннадцатая. Методика	251
А. Основные митогенетический эффект	251
1. Разновидности основного митогенетического эффекта	253
2. Детекторы с интегральным эффектом	254
3. Детекторы с моментальным эффектом	255
В. Анализ основного митогенетического эффекта	258
Послесловие	267
Приложение.	
Техника митогенетического исследования	271
1. Роговица лягушки	271
2. Дрожжевые культуры на агаре	271
а) Постановка опытов	273
б) Изучение препаратов	275
Литература	275

