

Изъ лабораторій проф. С. С. Зимницкаго и проф. В. Н. Болдырева.

Ходъ реакціи Абдерхальдена въ зависимости отъ пищеварительной и «періодической» работы пищеварительнаго аппарата.

Докторъ *И. Д. Князевъ.*

Часть I.

(изъ лабораторіи проф. С. С. Зимницкаго).

Вліяніе пищеваренія на реакцію Абдерхальдена.

Реакція Abderhalden'a въ настоящее время приобрѣла настолько большое примѣненіе и настолько большую извѣстность, что я считаю себя вправѣ въ своемъ краткомъ сообщеніи только вкратцѣ же указать на ея сущность, методику и область примѣненія.

На внутривенное введеніе въ организмъ бѣловыхъ тѣлъ, тѣлъ чуждыхъ ему, организмъ, согласно работамъ Abderhalden'a и др., отвѣчаетъ выработкой и появленіемъ въ крови ферментовъ протеолитическаго и при этомъ болѣе или менѣе специфическаго характера, Schuzz или Abwehr—ферментовъ.

Появленіемъ же въ крови такого же протеолитическаго, но при этомъ вполнѣ специфическаго фермента сопровождается и поступленіе въ кровь клѣтки хоріона и дѣтскаго мѣста.

Вотъ эта временно появляющаяся способность сыворотки крови расщеплять бѣлокъ на болѣе простые азотистыя соеди-

ненія, а при беременности къ тому же проявляющаяся только въ отношеніи ткани плаценты, и легла въ основу реакціи Abderhalden'a, предложенной имъ для распознаванія беременности.

Эта способность сыворотки можетъ быть обнаружена двумя способами: оптическимъ и діализаціоннымъ. Я не буду касаться перваго, какъ мало распространеннаго, и уважу лишь на второй, съ которымъ работаетъ большинство, съ которымъ работалъ и я.

Для постановки реакціи Abderhalden'a по методу діализа берутся діализаціонныя трубочки, провѣряются на непроходимость раствора яичнаго бѣлка и на проходимость раствора пептона. Въ нихъ помѣщается 0,5—1,0 гр. извѣстнымъ образомъ приготовленной плаценты.

Приготовленіе плаценты состоитъ въ томъ, что свѣжая плацента измельчается, тщательнымъ промываніемъ освобождается совершенно отъ крови и кипятится въ смѣняемой черезъ каждыя 5 мин. слегка подкисленной уксусной кислотой (1 капля лед. уксус. кисл. на 1000 к. с. воды) водѣ до тѣхъ поръ, пока эта вода не перестанетъ давать положительной біуретовой или нингидриновой пробы.

Въ трубочки съ плацентой приливается отъ 1,5—2, к. с. простоявшей не дольше 12 ч. совершенно свободной отъ гемоглобина и форменныхъ элементовъ испытуемой сыворотки. Послѣ этого трубочки погружаются въ 15—20 к. с. стерильной воды, налитой въ стерильный же стаканчикъ, поверхъ воды приливается слой толуола, 2—3 капли его же прибавляется въ гильзу. При постановкѣ реакціи слѣдуетъ строго слѣдить за тѣмъ, чтобы не касаться пальцами, загрязненными пинцетами, чтобы уровень воды въ стаканчикѣ былъ выше уровня сыворотки въ трубочкѣ.

Кромѣ этой трубочки, для контроля ставится еще трубочка съ одной сывороткой. Все это помѣщается въ термостатъ при 37°C. на 16—24 часа.

Результатъ опредѣляется или біуретовой реакціей или съ нингидриномъ. Въ виду большей чувствительности и демонстративности примѣняется нингидриновая проба. Для этого берется изъ стаканчика въ пробирку 10 к. с. воды, въ кото-

рую была погружена трубочка, въ ней прибавляется 0,2—0,3 к. с. 1% раствора нингидрина и кипятится въ теченіи одной мин. съ начала появленія первыхъ пузырьковъ. При положительномъ результатѣ реакціи появляется болѣе или менѣе сильное фіолетовое окрашиваніе. Непоявленіе въ теченіи $\frac{1}{2}$ ч. отъ конца кипяченія окраски указываетъ на отсутствіе въ водѣ пептона, а слѣдовательно и протеолитическаго фермента въ испытываемой сывороткѣ.

Въ данное время реакція Abderhalden'a примѣняется, кромѣ распознаванія беременности, для распознаванія злокачественныхъ опухолей; получается при глазныхъ болѣзняхъ, гельментіазисѣ, Базедовой болѣзни, невритахъ, сифилитическихъ и парасифилитическихъ нервныхъ заболѣваніяхъ, dementia praecox, туберкулезѣ вообще и туберкулезѣ легкихъ въ частности, при которомъ ходъ ея и колебанія въ связи съ теченіемъ болѣзненнаго процесса уважаемый пр. С. С. Зимницкій, вернувшись съ послѣдняго терапевтическаго съѣзда, и предложилъ мнѣ разобрать.

Приготовивъ для этой цѣли, какъ готовятъ плаценту, пораженное туберкулезомъ легкое, я началъ испытывать по методу Abderhalden'a сыворотку субъектовъ съ явнымъ туберкулезомъ легкихъ. Получивъ въ цѣломъ рядѣ случаевъ ясно положительныя реакціи, я у одного, несмотря на явный туберкулезъ верхней доли праваго легкаго, съ лихорадкой, получилъ при пробѣ съ нингидриномъ лишь очень слабое, почти незамѣтное желто-розоватое окрашиваніе. Это заставило меня обратиться къ субъектамъ, клинически свободнымъ отъ туберкулеза, чтобы съ одной стороны посмотрѣть, какъ у нихъ протекаетъ реакція Abderhalden'a и нингидриновая проба, а съ другой стороны проверить свою технику. Изъ пяти такихъ субъектовъ у двухъ, указавшихъ, что они часа 4—5 тому назадъ выпили по стакану чаю и съѣли немного хлѣба, я получилъ положительныя реакціи, равно какъ и у

лицъ, у которыхъ кровь бралась вскорѣ (не позже $1-1\frac{1}{2}$ ч.) послѣ ѣды.

Въ виду этого по совѣту пр. Зимницкаго я поставилъ нѣсколько опытовъ съ сывороткой накормленныхъ собакъ съ цѣлью посмотрѣть, насколько пищевареніе вліяетъ на получение положительнаго результата при реакціи Abderhalden'a.

Въ качествѣ субстрата я бралъ человѣческую плаценту. Разрѣзанная на мелкія кусочки свѣжая плацента тщательно освобождалась отъ крови. Для этого она промывалась текучей водой, нѣсколько разъ помѣщалась между пластами фильтровальной бумаги и гигроскопической ваты, слегка отжималась, и каждый разъ снова промывалась, кусочки же съ большими сгустками крови вовсе выбрасывались. Такимъ образомъ поступалъ я до тѣхъ поръ, пока кусочки не становились совершенно бѣлыми, а промывныя воды не давали реакціи на кровь. Только тогда производилось по указанному выше способу кипяченіе плаценты. Кромѣ плаценты, мною употреблялось еще промытое при жизни Лѣевковскимъ растворомъ, затѣмъ измельченное, промытое водой и прокипяченное, какъ плацента, кошачье легкое. Какъ плацента, такъ и легкое вмѣстѣ съ послѣдней порціей воды, въ которой они кипятились, помѣщались въ стерильныя, широкогорлыя, съ притертой крышкой банки, на дно которыхъ приливалось нѣсколько хлороформу, а сверху воды слой толуола для предотвращения гніенія.

Передъ каждымъ опытомъ эта вода испытывалась нингидриномъ на присутствіе азотистыхъ веществъ, и при положительной реакціи кусочки снова промывались и кипятились 5 м. въ свѣжей водѣ.

Для опыта мною бралось 0,5—1,0 гр. плаценты или легкаго, тщательно промывалось и кипятилось 5 м.

Трубочки до опыта провѣрялись на непроходимость раствора яичнаго бѣлка и проходимость раствора пептона Witte, при чемъ примѣнялись трубочки болѣе или менѣе

одинаково пропускавшие пептонъ. Провѣренные уже трубочки сохранялись въ стерильной водѣ подъ слоемъ толуола. Передъ употребленіемъ промывались и кипятились 4 мин.

Кровь бралась по 10—15 к. с. изъ наружныхъ яремныхъ венъ стерильнымъ шприцемъ, выливалась въ стерильную пробирку, какъ только наступало свертываніе, центрифугировалось.

Сыворотка для опыта бралась не гемолизированная; если же и ставились опыты съ гемолизированной сывороткой, то исключительно для опредѣленія значенія гемолиза въ извращеніи или затемненіи реакціи.

Кстати замѣчу, что для полученія собачьей негемолизированной сыворотки слѣдуетъ примѣнять парафинированныя пробирки. Трубочка съ плацентой и изслѣдуемой сывороткой помещалась въ стаканчикъ съ 15—20 к. с. стерильной нейтральной реакціи воды такъ, что уровень воды былъ выше уровня сыворотки. Все это ставилось въ термостатъ при 37° — $37,5^{\circ}$ с. на 17—24 г., послѣ чего результатъ опредѣлялся реакціей съ нингидриномъ. Кромѣ этой трубочки ставилась еще трубочка съ одной только сывороткой.

Все, что приходило въ соприкосновеніе съ трубочками, плацентой, сывороткой, водой было стерильно.

Опыты производились надъ собаками, голодавшими отъ 17—24 ч. У нихъ бралась кровь до кормленія и черезъ извѣстные промежутки времени послѣ начала кормленія.

Во всѣхъ изслѣдованныхъ мною случаяхъ спустя извѣстный, въ каждомъ отдѣльномъ случаѣ различный послѣ начала ѣды промежутокъ времени я получалъ положительную реакцію. Эта способность сыворотки давать въ зависимости отъ времени начала ѣды той или иной силы положительную реакцію по способу *Abderhelden*'а держится довольно долго и зависитъ, по видимому, еще какъ отъ рода пищи, такъ и отъ количества ея. Къ сожалѣнію, я не могу сейчасъ опредѣлить все это съ достаточной точностью, т. е. неожиданно

полученные во время этой работы факты, о которыхъ я сейчасъ буду говорить, отвлекли насъ на время отъ нея.

Я не буду также дѣлать разбора того, что въ данныхъ случаяхъ происходитъ въ діализаціонныхъ трубкахъ, отъ чего зависитъ положительный результатъ реакціи. Этого мнѣ не позволяетъ сдѣлать недостаточная полнота опытовъ. Обращу лишь Ваше вниманіе на эту таблицу.

Таб. I. Зависимость реакціи Abderhalden'a отъ ѣды.

Время отъ начала ѣды.	До	Чер. 1 ч	Чер. 2 ч.	Чер. 3 ч.	Чер. 4 ч	Чер. 6 ч.
	Дано	голодавш ей 18 ч.		собакѣ 50,0 сливоч.		масла.
	Трубки	ставились въ		термостатъ на 18 часовъ.		
Результатъ реакціи . .	+	—	+	++	ед. замѣт.	—

Вы видите, какъ въ зависимости отъ начала ѣды нарастала реакція и когда она пропала. Но если Вы въ этой порціи масла (50,0) прибавите еще бѣлаго хлѣба и нежирнаго мяса, то не только Вы получите положительныя реакціи и даже сильныя черезъ 4, 6 час., но и черезъ 8, 10 ч.

Здѣсь же я обращаю Ваше вниманіе и на тотъ фактъ, что у этой собаки, какъ иногда бывало у ней это и впоследствии, до ѣды получалась слабоположительная реакція. Точно также обстояло дѣло съ сывороткой и другихъ голодавшихъ собакъ, т. е. сыворотка ихъ то давала +, то —.

Получивъ такимъ образомъ до известной степени положительныя результаты отъ нашихъ опытовъ, направленныхъ для выясненія зависимости реакціи Abderhalden'a отъ фазы пищеваренія и отмѣтивъ фактъ то исчезанія, то появленія реакціи у собакъ въ періодъ голоданія, мы обратились къ пр. В. И. Болдыреву для выясненія интересныхъ и важныхъ

для вѣрности отмѣченныхъ данныхъ, которымъ мы не могли дать точнаго объясненія.

Часть II.

(Изъ лабораторіи проф. В. Н. Болдырева).

Вліяніе „періодической работы пищеварительнаго аппарата“ внѣ пищеваренія на реакцію Абдерхальдена.

Пр. Болдыревъ, ознакомившись съ полученными мною данными при голоданіи, предложилъ поставить слѣдующій опытъ: взять нѣсколько порцій крови черезъ равные промежутки времени у голодной собаки и съ ними поставить реакцію.

Взято было у голодавшей 17 ч. собаки пять порцій крови, по 10 к.с. каждая, съ получасовыми между ними промежутками. Въ результатѣ 1-ая порція дала +

2-ая	—	—	+ +
3-я	—	—	+
4-ая	—	—	совсѣмъ слаб.
5-ая	—	—	—

Узнавъ объ этихъ данныхъ пр. В. Н. Болдыревъ высказалъ увѣренность, что эти колебанія реакціи Абдерхальдена у голодныхъ собакъ зависятъ отъ открытой имъ „періодической работы пищеварительнаго аппарата“ внѣ акта пищеваренія и что положительная реакція соотвѣтствуетъ періоду „работы“, а отрицательная періоду „покоя“. Съ этого времени вся моя дальнѣйшая работа протекаетъ въ лабораторіи проф. Болдырева. Прежде чѣмъ приступить къ выясненію зависимости реакціи Abderhaldena отъ „періодической“ работы пищеварительнаго аппарата, нами было поставлено, къ сожалѣнію, только по одному опыту: 1) съ сывороткой собаки съ перевязанными протоками поджелудочной железы, гдѣ согласно высказанному еще до операціи В. Н. Болдыревымъ предположенію

я получилъ слабую реакцію, 2) съ сывороткой собаки, у которой было удалено $\frac{2}{3}$ поджелудоч. железы, а остальная $\frac{1}{3}$ выведена подъ кожу, получилъ реакцію средней силы и 3) собаки съ поджелудочной фистулой при гиперсекреціи—реакція отрицательная.

Послѣ этихъ опытовъ я приступилъ къ опредѣленію зависимости реакціи Абдерхальдена отъ „периодической дѣятельности пищеварительнаго аппарата“.

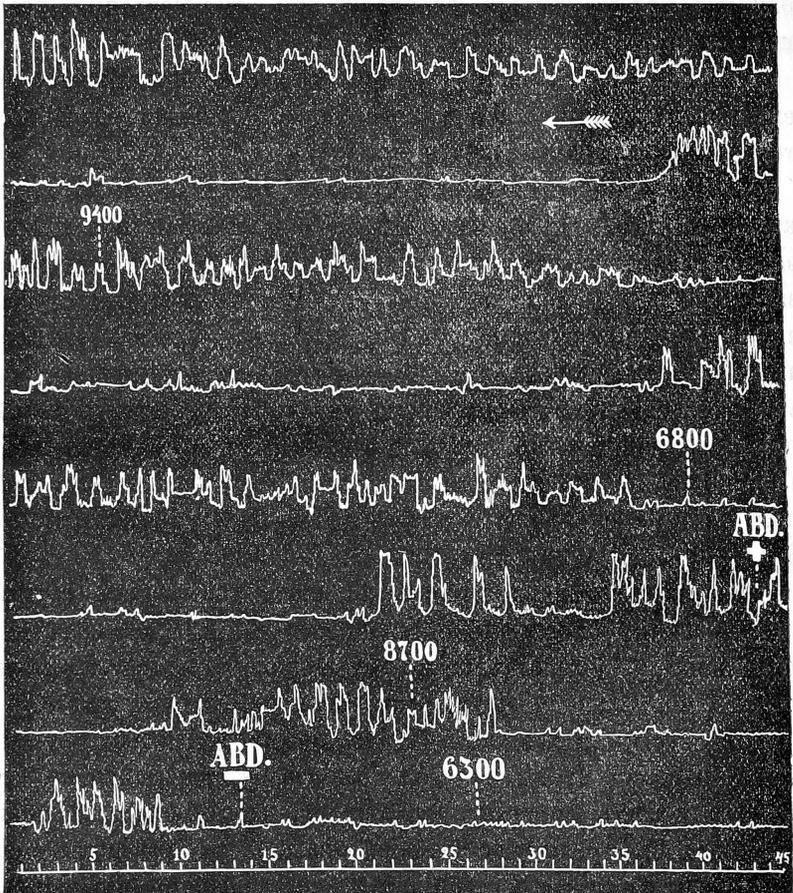
„Внѣ пищеваренія, при пустыхъ желудкѣ и тонкой кишкѣ, существуетъ правильная и однообразная, какъ ходъ часовъ, частью механическая, частью секреторная дѣятельность пищеварительнаго аппарата (см. рис. № 1). Черезъ строго опредѣленные промежутки времени, отъ $1\frac{1}{2}$ до $2\frac{1}{2}$ час. у разныхъ животныхъ, периодически отдѣляется поджелудочной и кишечной соки, а также желчь, и въ то же время наблюдаются сильныя ритмическія сокращенія въ желудкѣ и кишкахъ, благодаря чему излившіеся въ кишку соки распределяются на большія участки по всей ея длинѣ и цѣликомъ въ ней всасываются“ (пр. Болдыревъ. „Архивъ біологич. наукъ 1904 г.).

Предыдущими довлдчиками уже даны были подробныя указанія относительно сущности т. н. „периодической дѣятельности“ и было выяснено, что периодическая работа существуетъ не только у животныхъ, но и у людей, поэтому я привожу здѣсь только краткую выдержку изъ работы пр. В. Н. Болдырева и прямо перехожу къ обзору тѣхъ опытовъ, которые я успѣлъ поставить въ данномъ направленіи. Техника одинакова съ предыдущей; кровь бралась въ различные періоды работы и покоя. Всего опытовъ поставлено 26 (изъ нихъ на людяхъ 10, остальные на собакахъ; 4 на беременных сукахъ).

Вы видите на этомъ чертежѣ, который схематически изображаетъ періодъ „работы“ и „покоя“, плюсы во время работы“ и минусы во время „покоя“ (см. рис. № 2).

Вы видите, что какъ у собакъ, такъ и у людей реакція *Abderhalden'a* всегда появлялась въ періодѣ работы, и не появ-

Ж 1. Кривая периодическихъ сокращенийъ пустого желудка у человека и одновременное изслѣдованіе крови по *Abderhalden*'у и на количество лейкоцитовъ.



На кривой видно четыре періода работы и начало пятого.

Во время третьего періода работы взятая изъ вены кровь дала положительную реакцію *Abderhalden*'а (*Abd* +), въ періодъ же покоя отрицательную (*Abd* —). Количество лейкоцитовъ во время періодовъ работы (II, IV) 9.400 и 8.700. Въ покой 6800 и 6300. Опытъ длился 6 часовъ.

менты, только ли они одни или еще что-нибудь, я пока не могу сказать съ полной увѣренностью. Сейчасъ же пока констатирую только въ высшей степени важный въ практическомъ отноше- нии фактъ, что реакція *Abderhalden*'а у голоднаго субъекта въ зависимости отъ того, беремъ мы ли въ качествѣ суб- страта человѣческую плаценту или кошачье легкое, можетъ получаться и исчезать въ связи съ т. н. „періодической дѣя- тельностью пищеварительнаго аппарата“. Этимъ я не хочу сказать, что реакція *Abderhalden*'а при беременности, заболѣ- ваніяхъ раковыхъ и др., лишена всякой специфичности, что она исключительно зависитъ отъ указанной „періодической дѣятельности“. Возможно, что въ крови появляются специ- фическія въ смыслѣ *Abderhalden*'а ферменты. Но я и всякій другой не можемъ заранѣе знать, беремъ ли мы кровь въ пе- ріодѣ „покоя“ или въ періодѣ работы, т. е. будутъ ли въ данномъ случаѣ дѣйствовать предполагаемые специфическіе ферменты или предполагаемые пищеварительные. А разъ это такъ, то реакція *Abderhalden*'а въ томъ видѣ, какъ она произ- водится въ настоящее время, теряетъ многое изъ своего прак- тическаго примѣненія. Думаю, что эти факты, происхождение которыхъ выяснено въ лабораторіи пр. *Болдырева*, вполне объ- ясняютъ, почему у многихъ изслѣдователей получались поло- жительные результаты тамъ, гдѣ по *Abderhalden*'у не слѣдо- вало имъ быть, и заслуживаютъ настолько большаго вниманія въ себѣ въ настоящій періодъ съ одной стороны увлеченія реакціей, а съ другой совершеннаго разочарованія въ ней, что не опубликовывать ихъ я счелъ не возможнымъ, несмотря на неполноту изслѣдованія.

Протоколы части опытовъ.

Опытъ отъ 19/III 14 г. Сука „Бархатная“.

Техника обычная. Антигенъ—человѣческая плацента.

Реакція желудка на лакмус. бумагѣ слабо-кислая. Кровь бралась:

Результаты.

- | | |
|-------------------------------|-----------------|
| 1) 5 мин. спустя послѣ работы | — |
| 2) Середина работы | + ¹⁾ |
| 3) Конецъ покоя | — |
| Контрольныя пробы | — |

Опытъ отъ 24/III. Та же собака. Техника обычная. Реакція желудка щелочная. Въ термостатѣ 22 часа.

- | | |
|--------------------------|---------------|
| 1) Конецъ періода работы | + (оч. слаб.) |
| 2) Конецъ періода покоя | — |
| Контрольныя | — |

Опытъ отъ 25/III. Кровь взята у ст. С. В. Аничкова.

Техника обычная. Термостатъ 18 час.

- | | |
|-----------------------------|----|
| 1) Періодъ покоя. | — |
| 2) Въ концѣ періода работы. | ++ |
| Контрольная. | — |

Опытъ отъ 31/III. Кровь взята у ст. С. В. Аничкова.

Техника обыч. Термостатъ 18 час.

- | | |
|--------------------|----|
| 1) Періодъ работы. | ++ |
| Контроль. | + |
| 2) Конецъ покоя. | — |
| Контроль. | — |

Опытъ отъ 30/III. Кровь бралась у студ. И. Т. Теплова.

Техника обычная. Термост. 18 ч.

- | | |
|--------------------|------------------|
| 1) Періодъ работы. | ++ ²⁾ |
|--------------------|------------------|

¹⁾ То же и съ антигеномъ—кошачьимъ легкимъ.

²⁾ Нѣсколько слабѣе съ кошачьимъ легкимъ.

	Результаты.
2) Периодъ покоя.	—
Контрольн.	—
Опытъ отъ 14/IV. Сука моругая).	
Техника обычная. Реакція желуд. вѣсл.	
1) Периодъ работы.	+ +
Контрольная.	+
2) Покой (сыворотка гемолитич.)	} очень слаб.
Контроль.	
3) Периодъ работы.	+
Контроль.	—
Опытъ отъ 19/IV Сука „Лайка“. Р.	
щелочная. Техн. обыч.	
1) Начало работы.	+
2) Къ концу работы.	+
3) Покой.	—
Контрольные.	—
Опытъ отъ 22/IV. Сука беременная.	
Техника обыч. Антигенъ — человѣч.	
плацента.	
Реак. желуд. щел.	
Кровь бралась.	
1) Въ периодѣ покоя.	—
2) Въ периодѣ работы.	+
Контрольн.	—
Опытъ отъ 5/V. Кровь отъ человѣка.	
Техника обыч.	
1) Периодъ работы.	+ +
2) Периодъ покоя.	—
Контроль.	—
Опытъ 21/V.	
1) Периодъ работы.	+
2) Периодъ покоя	—