

УДК 597—143.62 : 597.554.3] : 621.039.8

НАКОПЛЕНИЕ РАДИОАКТИВНОГО УГЛЕРОДА С¹⁴ В ГЛИКОГЕНЕ ПЕЧЕНИ РЫБ

И. Ф. ВЕЛЬТИЦЕВА

С помощью радиоактивного углерода доказана возможность включения углерода минеральных соединений в различные органические вещества тела рыб, в том числе в гликоген печени и мышц.

Известно, что потребность рыб в ряде элементов в какой-то мере может удовлетворяться за счет усвоения их из воды, особенно при недостатке этих элементов в пище [1, 3, 6]. В этом отношении рыбы представляют особую группу животных. Поэтому было очень интересно получить сравнительные радиологические данные по величине использования минеральных соединений углерода на построение органического вещества — гликогена — у представителей разных классов животных.

Поскольку основным органом накопления гликогена у всех животных является печень, то в данной работе главным образом рассматривается интенсивность включения радиоактивного углерода минеральных соединений в гликоген печени.

Для сравнения мы взяли следующих животных: карпов, лягушек, голубей, крыс. Всех животных инъецировали радиоактивной содой (NaHC¹⁴O₃). Количество введенного радиоактивного углерода на единицу массы было близким (табл. 1). На вторые сутки после инъекции животных брали на анализ.

Таблица 1

Использование С¹⁴ соды на образование гликогена

Животные	Введено С ¹⁴ , мкюри/г	Средняя масса, г	Масса печени в % от массы животного	Количество гликогена, %		Количество С ¹⁴ соды, включенное в гликоген, %		Удельная активность гликогена печени, мкюри/г	Содержание гликогена в 1 г печени, мг	Активность 1 г печени за счет гликогена (в мкюри) при введении 1 мкюри на 1 г массы животного
				в печени	в мышцах	печени	мышц			
Карпы	2,60	25,1	3,0	10,40	0,69	0,2490	0,1740	2,100	104,0	84,00
Лягушки	3,22	42,7	2,1	6,90	0,61	0,0700	0,0170	1,550	69,0	33,21
Голуби	2,09	288,5	1,7	0,81	0,48	0,0061	0,0203	0,860	8,1	3,33
Крысы	1,96	30,8	5,9	0,49	0,21	0,0012	0,0002	0,113	4,9	0,28

Максимальный процент использования радиоактивного углерода соды на построение гликогена печени и мышц оказался у карпов (0,447%), меньший у лягушек (0,084%) и голубей (0,026%) и минимальный у крыс (0,0014%) (см. табл. 2).

Очевидно, снижение процента использования минеральных соединений углерода на построение гликогена и сокращение его количества на единицу массы (веса) печени можно рассматривать как эволюционные изменения в углеводном обмене. Если средний процент гликогена в мускулатуре разных групп животных колеблется сравнительно мало: от 0,69% у карпов до 0,21% у крыс, то колебания его в печени значительно больше: 10,4% у карпов, 6,9% у лягушек, 0,81% у голубей и 0,49% у крыс (см. табл. 1).

Наиболее резко отличаются между собой холоднокровные и теплокровные животные. Конечно, количество гликогена в печени может колебаться даже у одного вида животных в зависимости от степени их накормленности. В приведенном эксперименте животные перед опытом не голодали.

Судя по данным табл. 3, указанный процент гликогена в печени рыб является характерным. Даже при длительном голодании в печени рыб остается 1,5—2,0% гликогена, тогда как у взрослых крыс после 24-часового голодания оставались только следы гликогена, не поддающиеся выделению [5].

Интересно отметить, что такой большой разницы в жировом обмене у представителей разных классов животных не наблюдалось. Правда, об этом мы судили только по жировому обмену печени, по интенсивности включения C^{14} соды в жир. Сравнительные данные по жировому и углеводному обменам у разных классов животных представлены в табл. 2.

Таблица 2

Интенсивность включения C^{14} соды в углеводы и жиры у представителей разных классов животных

Животные	Углеводный обмен		Жировой обмен	
	% использования C^{14} на гликоген печени и мышц	за единицу принят % использования C^{14} крысами	% использования C^{14} на жир печени	за единицу принят % использования C^{14} крысами
Крысы	0,0014	1,0	0,00032	1,0
Голуби	0,0260	18,6	0,00010	0,3
Лягушки	0,0840	60,0	—	—
Карпы	0,4470	319,3	0,00262	9,0

Таблица 3

Содержание гликогена в печени и мышцах (в %)

Рыбы	Месяц опытов	Средняя масса рыб, г	% гликогена в			
			печени		мышцах	
			средний	колебания	средний	колебания
Карп	Январь	18,6	8,5	1,6—13,2	0,9	0,3—1,7
	Март	8,0	8,0	7,6—8,4	0,6	0,6—0,7
	Май	10,6	15,5	12,5—18,7	0,9	0,4—1,2
Амурский сазан	То же	6,2	10,7	9,0—13,0	0,3	0,2—0,5
Карп	Июнь	11,9	12,7	11,3—14,9	0,5	0,1—0,8
	Август	25,2	11,0	9,3—10,3	0,8	0,5—1,3
	Декабрь	18,1	12,1	8,0—15,0	0,5	0,4—0,9

Как видно из табл. 2 и 3, карпы обладают высокой степенью включения радиоактивного углерода минерального происхождения в гликоген. Кроме того, депонирующая способность печени карпа оказывается значительно выше, чем у других групп животных.

Все вышесказанное дает основание предложить использовать карпов в качестве объекта для получения радиоактивного гликогена, а затем глюкозы.

Дело в том, что радиоактивная глюкоза очень дорога: в зависимости от положения меченого углерода 1 $\mu\text{к}$ глюкозы стоит 150—300 руб. Получают ее методом биосинтеза. Один из способов получения глюкозы основан на получении радиоактивного гликогена из печени крыс. Крысам вводят радиоактивную соду, меченную по C^{14} , и глюкозу (по Арнштейну и Бертли). Радиобиохимический выход по углероду в этом случае составляет 0,25%. Б. Н. Степаненко и И. З. Сергиенко [5] предложили новый метод, позволяющий увеличить радиобиохимический выход до 0,37%. Для получения указанного результата крысам вводят в определенном соотношении радиоактивную соду, глюкозу и адреналин. При введении крысам одной радиоактивной соды были обнаружены лишь следы радиоактивного гликогена.

Наши опыты на карпах показывают, что у рыб без введения дополнительных веществ, кроме одной радиоактивной соды, можно получить радиобиохимический выход по углероду, близкий к максимальному, достигнутому у крыс, которым вместе с содой вводили дополнительные вещества. Поэтому интересно было проследить, что можно получить от рыб (карпов), если соду вводить в сочетании с другими компонентами. При введении адреналина и глюкозы мы пользовались оптимальными концентрациями, рекомендованными Б. Н. Степаненко и И. З. Сергиенко [5]: глюкозы из расчета 200 мг на 100 г массы и адреналина 0,1 мл раствора 1 : 5000 на 100 г массы. Количество вводимой соды по сравнению с количеством соды в опытах Б. Н. Степаненко и И. З. Сергиенко (0,2 мккюри/г) было увеличено и в разных опытах колебалось от 2 до 16 мккюри/г . Кроме того, в одном из опытов, помимо указанных компонентов, был введен сернистый цинк (0,01 мг/г) и аскорбиновая кислота (0,1 мг/г).

В работе рассмотрено влияние различных концентраций соды на радиобиохимический выход по углероду.

Эти вопросы были изучены на рыбах с различным содержанием гликогена в печени, полученным в результате неодинакового режима питания. Опытные рыбы условно были разделены на три группы:

I. С низким содержанием гликогена в печени (2,8—6,8%), долго голодавшие.

II. Со средним содержанием гликогена в печени (12%), кормившиеся нормально.

III. С высоким содержанием гликогена в печени (22,5—23,6%), образовавшегося в результате усиленного питания после длительного голодания.

Прежде чем рассмотреть основной вопрос, нам хотелось бы заметить, что закономерной связи в проценте использования C^{14} минерального происхождения на построение гликогена у рыб разной массы (от 7 до 38 г) не наблюдалось.

При увеличении количества введенной соды на 1 г массы тела от 2,3 до 16,1 мккюри/г процент использования C^{14} на построение гликогена изменился незначительно. Удельная активность гликогена в этом случае несколько возрастала, но не пропорционально возросшей концентрации, а гораздо меньше (табл. 4).

Мы сочли возможным представить результаты всех опытов в сводной табл. 5.

При введении рыбам II группы (со средним процентом содержания гликогена — 12%) соды и соды+адреналин+глюкоза процент использования C^{14} на построение гликогена оказывается очень близким: соответственно 0,51 и 0,46%. Прибавление к указанной выше смеси аскорбиновой кислоты и сернокислого цинка очень незначительно улучшает результат (0,53%), и поэтому все эти цифры можно считать величинами одного порядка.

Аналогичное явление мы наблюдали и на лягушках, имеющих довольно большое количество гликогена в печени (6—9%). При введении им одной соды радиобиохимический выход по углероду составил 0,087%, а при введении соды+адреналин+глюкоза —

Таблица 4
Использование C^{14} соды на построение гликогена при разных дозировках введенной соды

Масса рыб,	Введено соды, мккюри/г	% использования C^{14} соды на построение гликогена печени и мышц	Удельная активность гликогена печени, мккюри/г
25,0	2,3	0,44	2,09
18,0	7,2	0,79	6,01
8,1	16,1	0,38	9,04

Таблица 5
Использование C^{14} соды на построение гликогена у рыб с разным первоначальным содержанием гликогена в печени

Группа рыб	Введено соды, мккюри на 1 г массы животного	Колебания средней массы рыб, г	Масса печени в % от массы тела	Содержание гликогена в печени, %	Количество C^{14} соды, включенного в гликоген печени, %	Выделено гликогена на 1 г массы печени, мг	Удельная активность гликогена печени, мккюри/г	Активность 1 г печени за счет гликогена (мккюри/г) при введении 1 мккюри на 1 г массы животного	
Введена сода									
I	2,0—4,0	16—33	2,4	2,8	0,07	18,2	2,11	64,1	
II	0,1—16,1	8—38	4,3	12,0	0,51	119,8	4,35	137,5	
III	0,3—5,7	9	7,6	23,6	0,26	235,6	0,26	33,4	
Введены сода, глюкоза, адреналин									
I	1,8—4,7	14—37	2,4	6,8	0,58	67,9	13,89	249,5	
II	0,1—14,7	9—28	4,2	12,0	0,46	119,8	8,33	114,5	
III	0,3—7,3	7—8	7,7	22,5	0,32	224,9	0,42	44,8	

0,109%. Хотя при введении смеси намечается тенденция к увеличению использования C^{14} на построение гликогена, но разница не так велика. Введение соды и соды+адреналин+глюкоза рыбам III группы с очень высоким содержанием гликогена в печени (22,5—23,6%) дает тоже очень близкие результаты по использованию углерода соды на построение гликогена (0,26 и 0,32%). Однако в обоих случаях радиобиохимический выход снижается почти в 2 раза. Только для рыб I группы, с низким содержанием гликогена в печени (2,8—6,8%), добавление к соде адреналина и глюкозы дает значительно лучший эффект (радиобиохимический выход 0,58%), чем введение одной соды (0,07%). В данном случае наблюдается картина, аналогичная полученной Б. Н. Степаненко и И. З. Сергиенко в опытах с крысами [5].

Анализируя все данные, полученные в ряде опытов, можно сделать вывод, что количество минерального углерода, используемого на построение гликогена, или радиобиохимический выход по углероду (в %), специфичен для каждой группы животных. При нормальном состоянии рыб он может колебаться от 0,26 до 0,58%. Действие любых стимуляторов сводится всего лишь к достижению оптимума, характерного для данного вида животных.

Приведенные выше данные по опытам с лягушками свидетельствуют о колебаниях процента использования C^{14} на построение гликогена вокруг своего оптимума.

Удельная активность гликогена при введении одной соды ниже, чем при добавлении еще адреналина и глюкозы.

Введение вместе с содой адреналина и глюкозы способствует увеличению удельной активности глюкозы. Очевидно, благодаря адреналину происходит более быстрое замещение стабильного гликогена печени на вновь образующийся радиоактивный. Величина же возрастания удельной активности обратно пропорциональна количеству гликогена, имевшемуся в печени до опыта.

В результате проведенных опытов можно сказать, что рыбы (карпы) могут быть использованы в качестве объекта, интенсивно синтезирующего радиоактивный гликоген за счет включения C^{14} соды.

Из табл. 6, составленной по нашим данным и данным Б. Н. Степаненко и И. З. Сергиенко, видно, что радиобиохимический выход у рыб в любом случае выше, чем у крыс.

Таблица 6

Использование C^{14} соды карпами и крысами на построение гликогена при введении одной соды и соды в сочетании ее с другими веществами

Животные	Инъекция веществ	Радиобиохимический выход, %
Крысы (взрослые) ¹	Сода	Следы гликогена, не поддающиеся выделению
Крысы (молодняк) ²	»	0,014
Карпы (годовики) ²	»	2,490—5,10
Крысы (взрослые)	Сода + адреналин	1,03
	Сода + глюкоза	2,66
	Сода + глюкоза + адреналин	3,77
Карпы (годовики) ²	Сода + глюкоза + адреналин	4,60—5,80
	Сода + глюкоза + адреналин + аскорбиновая кислота + сернокислый цинк	5,30

¹ По данным Б. Н. Степаненко и И. З. Сергиенко.

² По данным автора.

Благодаря более высокому проценту использования C^{14} минеральных соединений на построение гликогена, более высокой удельной активности и большому количеству гликогена в печени, в конечном итоге, от рыб за счет гликогена печени можно получить на 100 г массы (веса) животного большую активность.

В табл. 7 приведены лучшие результаты опытов Б. Н. Степаненко и И. З. Сергиенко с крысами и итоги тех вариантов наших опытов с карпами, которые позволяют получить лучший эффект.

Из табл. 7 видно, что от рыб можно получить значительно больше радиоактивного гликогена, чем от крыс. Допустим явное занижение

Эффективность получения радиоактивного гликогена из печени крыс и карпов

Животные	Введенные вещества	Введено радиоактивной соды на 100 г массы животного, мкюри	Выделено гликогена на 100 г массы животного, мг	Удельная активность гликогена, мкюри/г	Получено (за счет гликогена печени) на 100 г массы животного, мкюри	Получено гликогена на 100 г массы животного при введении 1 мк (расчетные данные) мкюри	Радиобиохимический выход, %
Крысы (взрослые)	Сода + адреналин + глюкоза	21	85	0,175	0,0149	0,71	3,77
Карпы (годовики) II группы	Сода	230	322	2,010	0,6470	2,94	2,55
Карпы (годовики) I группы	Сода + адреналин + глюкоза	393	172	14,740	2,5350	6,45	5,80

результатов и сделаем простой арифметический пересчет на введение 1 мк на 100 г массы (веса) животного, хотя приведенные выше данные (см. табл. 4) показывают, что с увеличением дозировки радиоактивного вещества активность гликогена увеличивается не пропорционально возрастающей активности. Но даже при этом пересчете видно, что введение рыбам одной соды дает улучшение результата по сравнению с результатами, полученными на опытах с крысами, в 4 раза, а добавление адреналина и глюкозы увеличивает его в 9 раз.

ВЫВОДЫ

1. По сравнению с перечисленными животными карпы более интенсивно усваивают минеральный углерод и накапливают в печени большее количество гликогена.

2. Эта особенность карпов может быть использована для получения радиоактивного гликогена, а из него — радиоактивной глюкозы.

3. Введение рыбам одновременно с содой адреналина и глюкозы может увеличивать радиоактивность получаемого гликогена.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богоявленская М. П. Изучение кальциевого обмена в целях использования Са⁴⁵ в качестве метки. Изд-во журнала «Рыбное хозяйство», 1959.
2. Вельтищева И. Ф. Проникновение углерода (C¹⁴) карбоната из воды и распределение его в теле рыбы. Труды ВНИРО. Т. XLIV, 1961.
3. Смелова И. В. Проникновение различных соединений S³⁵ из воды в тело рыбы. Труды ВНИРО. Т. XLIV, 1961.
4. Сорвачев К. Ф. и Белокопытова О. В. Поглощение рыбами неорганического углерода из окружающей среды и участие его в обмене веществ. «Биохимия». Т. 25. Вып. 3, 1960.
5. Степаненко Б. Н. и Сергиенко И. З. К изучению влияния адреналина на фиксацию углекислоты в животном организме и усовершенствование метода синтеза гликогена и глюкозы, меченных в 3-м и 4-м положениях. Труды Всесоюзной конференции по применению изотопов и ядерных излучений. Изд-во АН СССР, 1958.
6. Шеханова И. А. Изучение фосфорного обмена у молоди карповых и осетровых рыб с применением радиоактивного фосфора. Изд-во журнала «Рыбное хозяйство», 1959.