

ПРОБЛЕМНІ ОГЛЯДИ

Проблема гемоглобіну.

Засл. проф. М. Ф. Білоусов.

Лабораторія порівняльної фізіології (зав.— засл. проф. М. Ф. Білоусов) Українського інституту експериментальної медицини (директор — проф. Я. І. Ліфшиц).

Гемоглобін належить до групи дихальних пігментів, поширених серед тварин і рослин. Так пояснює наука — порівняльна фізіологія. У ботанічній і фізіологічній літературі висловлювали й таку думку, що рослинні й тваринні пігменти взагалі відіграють певну роль у дихальній функції (афідиродейн — Sorby, Білоусов, хромогени — В. І. Палладін та інші, каротини). Проте безперечно, що гемоглобін, як найбільш досліджений пігмент, посідає тут перше місце. Поруч з роботами морфологів та біохеміків, що перекинули міст між рослинним і тваринним світом, дуже великий прогрес становлять праці Мархлевського, Ненцького, Wilstätter'a, які виявили спорідненість цього пігменту з хлорофілом. Величезне значення мають також роботи про синтез гемоглобіну (гематин + глобін — R. Hill), про з'ясування суті гемохромогенів (Anson й Mirsky) — гематин + піридин (нікотин), роботи, присвячені вивченню спектрів тих гемохромогенів, які призвели до розуміння цитохрому (гістогематину) — роботи Keilin'a. Велику роль відіграє і виявлення хемічних взаємовідношень між цитохромом та гемоглобіном. Усі ці роботи ще більше укріпили зв'язок між рослинним і тваринним світом, бо цитохром дуже поширений в різних органах вищих та нижчих рослин. Добре відомо, яку роль відіграло вивчення цитохрому в спробах пояснити тканинне дихання (система Warburg'a). Роботи Keilin'a важливі й тим, що розкривають перед нами картину еволюції та диференціації гемоглобіну у живих істот.

І справді, можливо, що в протоплазматичному комплексі первинних організмів — родоначальників рослин і тварин — з'явилась речовина пірольного характеру, з якої розвинувся гематопорфірин і під впливом світла — філопорфірин. Спорідненість походження доводить і те, що й тепер у багатьох тварин виявляють пігменти, близькі до хлорофілу (Білоусов), а також велике поширення цитохрому навіть у бактерій (крім анаеробних).

Поширення гемоглобіну.

У нижчих безхребетних тварин вперше спостерігаємо гемоглобін лише у голкошкірих, і то, як досі відомо, у *Orhiactis virens* (із групи офіур) та у *Synapta* (у групі голотурій). Проте, відомо, що й інші представники цього класу містять гемоглобін; такого висновку можна дійти і на підставі спостережень Mc Munn'a, що в зовнішніх покривах деяких морських зірок виявляють гематопорфірин.

У класі червів гемоглобін досить поширений; його спостерігаємо тут у найрізноманітніших групах, але спорадично, поза зв'язком із зоологічною спорідненістю, коли навіть у близьких форм його немає. Найбільше його виявляють у групі щетинкових червів,— приміром, у дощового червяка, у трьох представників п'явок (медична, кінська), у трьох представників групи гефірей (морські) та в багатьох немертин.

Хоч зоологи вважають м'якунів за тварин вищої організації проти червів, а, проте, гемоглобін виявлено лише в небагатьох представників цього класу—у болотяної катушки (*Planorbis*), у ставковиків (*Limnaeus* *Paludina*) та в деяких морських пластинчатозябрових (*Arca*, *Solen* та інш.). Ще рідше міститься гемоглобін у ракоподібних; там його досліджено в небагатьох наших прісноводних рачків, як дафінія, артемія, *Apus*, *Branchipus* та деяких, що живуть на рибах, паразитичних форм—*Clavella*, *Congericola*, *Lernanthropus*, а серед комах—лише в личинок комара—*Chironomus* та мухи—*Musca domestica* (кімнатна муха) та паразитичної (у шлунку коня) личинки овода (*Gastrophilus*).

Обминаючи велику групу покровників (*Tunicata*), що, як вважають, філогенетично близько стоять до хребетних, гемоглобін найбільше виявлено саме тут; і те, що раніш констатувалось спорадично, ця особливість у цьому класі тварин відзначалась як характерна ознака цих тварин (у Арістотеля—„тварини з червоною кров'ю“). Сучасна наука знає тільки два винятки—*Amphioxus* та личинки у вугроподібних риб (*Leptocephalidae*).

У крові хребетних тварин гемоглобін міститься тільки в еритроцитах; тут він хемічно пов'язаний з їх речовиною ліпоїдним комплексом у циркулюючій крові. Інакше стоїть справа у тварин безхребетних. Тут можна виявити гемоглобін не тільки на кров'яних кульках, але й у плазмі крові, на ядерних та без'ядерних клітинах, у водно-судинній, у кровоносній системі, в нервових гангліях, у порожнині тіла. От, приміром, у морського червяка Афродити (*Aphrodite aculeata*) гемоглобін виявлено тільки в черевних гангліях, у *Polynoe* (щетинисті морські червяки, як і Афродита) гемоглобін омиває церебральний ганглії. У дощового та в багатьох інших червів гемоглобін міститься тільки в плазмі крові, у *Orphiactis virens* (офіура, морська зірка зміївидна)—на формених елементах амбулакральної системи—ядерних та без'ядерних; у деяких щетинистих червів (*Glucera* та інш.) гемоглобін пов'язаний з кров'яними кульками у порожнині тіла; у болотяної катушки (*Planorbis*)—теж у плазмі крові. Тут не можна встановити будьяких закономірностей.

Розподіл гемоглобіну не пов'язаний ані з місцем, ані з часом, бо у деяких тварин він з'являється в личинковому стані, а в дорослих форм його немає, і навпаки.

К. Бернар називає кров тварин внутрішнім дихальним середовищем; Але такою може бути не тільки кров, а й інші органи (порожнина тіла, водно-судинна система та інш.). Це визначення справедливе лише щодо хребетних тварин.

Пристосування деяких речовин у хемії організму до дихальної функції на протязі історії розвитку тваринного світу йшло різними етапами. У деяких тварин—приміром, у покровників (*Tunicata*) спостерігаємо безбарвну речовину, тобто γ -ахроглобін білкової натури (глобулін), що добре пов'язує кисень навіть у відносно більшій кількості, ніж гемоглобін, і функціонує, як і гемоглобін (*Griffiths*), у крові асцидій. Інших дихальних речовин у цій групі тварин не виявлено. Серед м'якунів *Griffiths* описав іншу дихальну речовину білкової глобулінової природи—ахроглобін з аналогічними властивостями (у небагатьох форм—

Patella, Pinna, Doris, Chiton). У крові деяких червів (Sabella, Chloronema та інших) досліджено (Lankester, Griffiths) особливий дихальний пігмент у крові, який надає їй яскраво-зеленого забарвлення — хлорокруорин, що міститься у формі оксихлорокруорину (в артеріальній крові) та в редукваному вигляді (у венозній), як і гемоглобін.

Цей дихальний пігмент особливо цікавий тим, що з нього легко виділити гематин, основне ядро гемоглобіну. Крім гемоглобіну у м'якунів та ракоподібних дуже поширений дихальний пігмент блакитного кольору — *гемоціанін* (Ermann, Harless) з мідною мінеральною основою (Cu, як у гемоглобіні Fe), у порівняно широких межах (від 4 до 9 Рn) дисоціюючий.

У морських їжаків у перивісцеральній рідині на формених елементах Mc Munn та Griffiths описали особливий дихальний пігмент, що міститься в окисдованій та відновленій формі з характерним спектром, — *ехінохром*; у продуктах розпаду він дає гематин.

Оце, мабуть, і всі дихальні речовини, що містяться у тварин поруч з гемоглобіном, в аналогічній функції та в аналогічній формі. Можна ще згадати про гемеритрин — червоний пігмент, але його дихальна роль у червів сумнівна (Griffiths).

Отже, гемоглобін пройшов усі етапи розвитку, міцно пов'язавшись з організмом хребетних тварин, з їх кров'ю та форменими спеціальними елементами.

Але ж чи становить гемоглобін у всіх тварин речовину однакових властивостей — гемоглобін офіури, гемоглобін дощового червяка, риби, амфібії, людини?

Перші дослідники цього питання, що добули, приміром, барвник крові дощового червяка, добули кристали, однакові з кристалами гемоглобіну собаки, білки, добули спектр, однаковий із спектром гемоглобіну цих тварин та подібних їм, добули кристали геміну, подібні таким же вищих тварин, — могли дати позитивну відповідь на це питання. Але вже а ргіогі можна було припустити, що гемоглобін, створений в тій чи іншій живій фабриці організму дощового червяка, голотурії, катушки, собаки, людини, так чи інакше у своїх частинах — глобіні, гемохромогені — запозичатиме хемічні властивості цих живих організмів. Найближче дослідження питання показало, що це справді так.

Уже Foettinger, який вперше дослідив гемоглобін у голкошкірих, відзначив деяку відміну цього гемоглобіну, хоча спектр його був аналогічний із спектром гемоглобіну хребетних.

Griffiths із крові дощового червяка добув хороші кристали гемоглобіну за тим же методом, як і з крові хребетних, але елементарний аналіз цих кристалів показав чималу відміну у вмісті сірки, заліза, водню.

Наші дані в цій галузі, на жаль, ще дуже небагаті, бо в справі порівняльної фізіології, взагалі кажучи, працюють дуже мало. Проте, останнім часом, із збільшенням інтересу до цієї галузі, є вже спостереження характеру кривої дисоціації гемоглобіну в різних умовах (спостереження Krogh'a, R. Hill'я, Barcroft'a та інш.).

Виявляється, що швидкість дисоціації (Entladungsspannung Krogh'a), коли чистий гемоглобін наполовину віддає свій кисень (розряджується), залежно від парціального тиску, неоднакова для різних тварин — приміром, для ссавців та холонокровних, для тварин, що живуть у багатому чи бідному на кисень оточенні — приміром, для гемоглобіну личинок Chironomus при 20° часто лише 0,17 мм Hg, для Planorbis ще менше (Seliscar); при тиску приблизно 0,17 мм Hg гемоглобін Chironomus майже наполовину вже насичений.

Але чи залежать ці співвідношення і від крові як такої, від її електролітів (РН), від кількості вуглекислоти? Синтетичний гемоглобін R. Hill'я (гематин + глобін) виявляє щодо цього надзвичайні особливості — крива дисоціації схожа з кривою дисоціації у вугря (Redfiele). Abderhalden пояснює такі особливості змінами в молекулі глобіну, бо добре досліджена кольорова частина (гемохромоген), добута синтетично (Г. Фішер), не допускає змін. Все ж і він відзначає відміну гемоглобінів зародку та матернього організму щодо діяння лугів (більш і менш тривкий). Дослідження Griffiths'a, проведені над ахроглобінами у Pinn'a, Chiton, Doris та інш., виявили також, що кількості зв'язуваного кисню за однакових умов неоднакові — так само, як і питоме обертання. Для гемоглобінів різних тварин (вищих) останнім часом також показано, що показник рефракції — різний. Отже, можна дійти висновку, що гемоглобіни різних тварин на протязі їх поширення якісно і кількісно змінились стосовно до умов існування тварин — як і взагалі хромопротейди, куди належить і гемоглобін.

Роль гемоглобіну та його похідних.

Величезне значення кисню для розвитку життя і життєвих процесів особливо підкреслює роль гемоглобіну в організмі. А ми ще про нього не все знаємо; це особливо впадає в око, коли із тісного кола лабораторних тварин вийдемо на безкрайній простір різноманітних форм тварин та умов їх існування в природі. Важлива роль гемоглобіну, як переносника кисню, посередника між дихаючими тканинами та зовнішнім середовищем, безперечна. М'язи тварин ще можуть деякий час скорочуватися в безкисневому середовищі, але ж позбавлення мозку кисню навіть на кілька секунд припиняє його функцію. Тих запасів кисню (щось із 800 куб. см), що містяться в крові людини в стані спокою, вистачає на 2—3 хвил., а під час роботи ще менше. Поринувши у воду, навіть найкраще треніювані плавці витримують 2—3 хвил. У багатьох риб (глибоководних) є запаси кисню (в плавальному пузирі). Давно вже фізіологів (Р. Bert та інш.) цікавило питання, чому молоді тварини здатні довше боротися з афіксією, а багато вищих тварин (ссавці, птахи) так довго можуть лишатися під водою (деякі тварини — до 30 хвил.). Базуючись на анатомічних особливостях цих тварин (особливий сфінктер у нижній порожнистій вені, навколо аорти при виході її із діафрагми, густе артеріальне плетиво коло основи мозку — Cuvier), фізіологи давали мало задовільні пояснення цих цікавих явищ. Був такий час, коли для пояснення цих і подібних явищ зверталися до привабливої теорії інтрамолекулярних запасів кисню в тканинах (Hermann, Pflüger та інш.).

Деякі тваринні організми живуть у таких природних умовах, де кисню дуже мало (сапробіонти) — у твані з гниючими речовинами, в піску, в землі, у нутрощах тварин (факультативні аноксидіонти). У таких тварин гемоглобін міститься в плазмі або тільки в окремих тканинах та органах (у м'язах, у гангліях). Такі, приміром, личинки Chironomus, Tubifex, дощовий черв'як, Arenicola, Nereis (із морських червів), Planorbis, Paludina та інш. Порівняно до маси тіла гемоглобіну цих тварин буває чимало (приміром у Chironomus — до 50%).

На підставі спостережень Cole, Lankester, Leitch (в лабораторії Krogh'a) видно, що такі тварини у звичайних умовах не користуються своїм гемоглобіном, венозна кров їх (Planorbis) яскраво-червона, легені (Planorbis) не працюють; при поринанні у воду гемоглобін віддає свій кисень поступово й повільно; крім того, гемоглобін цих тварин, відповідно до свого характеру, здатний використовувати кисень середовища до

кінця (навіть при низькому парціальному тиску). Усуваючи функцію гемоглобіну (діянням CO), експериментатори могли спостерігати нормальне життя тварини (завдяки кисневій, розчиненому у воді). У *Aphrodite* (морські щетинисті червяки), у червів із групи немертин, *Nemertes* гемоглобін міститься тільки в нервовій системі. Маючи на увазі залежність між нормальним функціонуванням нервової системи та киснем, стає зрозумілим таке співжиття гемоглобіну з нервовими гангліями у цих тварин (Hubrecht, Schafer).

Кривої дисоціації гемоглобіну цих тварин не досліджено, а тому позитивної відповіді з приводу такого незвичайного явища у цих тварин покищо дати не можемо. Обидві тварини належать до літоральної фауни. Відомо, що немертини живуть під камінням при недостатній вентиляції та русі води. Може тут слід шукати пояснення цього явища.

Деякими спостереженнями виявлено гемоглобін у м'язах тварин — у так званих „червоних“. Він завжди міститься в серцевому м'язі хребетних, у крилових м'язах птахів. Серед безхребетних — у м'язах *Radula*, у глотці деяких червононогих м'якунів (*Planorbis*, *Limnaeus*). Чи маємо у всіх цих випадках гемоглобін чи міогематин (щодо цього думки розбігаються) — байдуже, бо обидві речовини виконують однакову функцію, проте, з тією відмінню, що вже при низькому тиску кисню цей пігмент уже насичений (при 17°C та 9,3 Рн R. Hill) і легко віддає свій кисень м'язові.

Через те, що ці м'язи у згаданих тварин працюють періодично, то припускають (Anrep), що хромопротейд у цих органах полегшує їх роботу на час скорочення, коли приплив крові утруднений. Споріднений хромопротейд міститься в м'язах личинки овода (*Gastrophilus*) у шлунку коня. Через те, що в самої мухи гемоглобіну немає, то гадають, що гемоглобін хазяїна переходить до паразита.

Keilin докладно дослідив спектр цієї речовини і виявив, що він дуже схожий із спектром редукованого міогематину. Kemnitz, вивчаючи метаболізм цієї личинки, виявив, що дихальний коефіцієнт мінливий залежно від умов: при кисні, при малому парціальному тиску кисню; у зв'язку з цим і стоїть функція міогематину її тканин. Kemnitz вважає, що в цих анаксібіотичних форм та в тварин, що живуть у середовищі з малим парціальним тиском кисню, гемоглобін (міогематин) бере участь в окисдації продуктів розщеплення білка, в утворенні глікогену.

Як і гемоглобіни, гемохромогени, за дослідженнями Anson'a, Keilin'a, у різних тварин та в різних умовах їх існування мають різну природу залежно від тієї азотистої речовини, що належить до їх складу: змінений глобін чи піридин, нікотин — речовина основного характеру. Спектри їх дуже схожі, і всі вони відзначаються високою барвною властивістю залежно від хромофорної групи (гематину), хоч і природа основного тіла у складі частини (Keilin) впливає і на спектр і на кольоровість. Приміром, піридиновий гемохромоген, навіть при максимальному розведенні, дає змогу розрізнати характерний спектр. Це дало змогу виявляти цитохроми там, де їх виявити і не гадали — у рослин, у шидзоміцетів (крім анаеробних бактерій). На думку Keilin'a, цитохроми мають велику вагу в оксидативних процесах живих істот.