

В.Г. ГОРДОН.

Из Биохимической лаборатории (Зав.проф.Э.Э.МАРТИНСОН)
Отдела Общей Физиологии (Зав.заслуженный деятель науки
проф. К.М.БЫКОВ) Ленинградского филиала ВИЭМ и кафедры
биологической химии Свердловского Государственного Ме-
дицинского Института (Зав. проф. С.А. БРАЙЛОВСКИЙ).

ВОССТАНОВЛЕНИЕ МЕТТЕМОГЛОБИНА

В ГЕМОГЛОБИН ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ

НЕКОТОРЫХ ВЕЩЕСТВ .

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата биологических наук.

Ленинград - Свердловск

1944 г.

О Г Л А В Л Е Н И Е .

Стр.

В в е д е н и е	1
Глава I. Литературный обзор	11
Глава II. Методика и материал исследования . .	38
Глава III. Спонтанное восстановление мет- гемоглобина в гемоглобин <i>in vivo</i> . .	48
Глава IV. Опыт применения глюкозы, как восстановителя метгемоглобина <i>in vivo</i>	58
Глава V. Опыт применения лактата кальция и лактата натрия, как восстано- вителей метгемоглобина <i>in vivo</i> . . .	70
Глава VI. Опыт применения метиленовой сини как восстановителя метгемогло- бина <i>in vivo</i>	80
Глава VII. Восстановление метгемоглобина в гемоглобин при применении глю- козы и лактата кальция <i>in vitro</i> . .	116
Заключение	120
Р и з о м	124
Литература	127

В В Е Д Е Н И Е .

Основной и важнейшей функцией пигмента крови млекопитающих - гемоглобина - является его способность давать непрочное, легко диссоциирующее, соединение с кислородом - оксигемоглобин.

Основной функцией гемоглобина является его способность с одной стороны связывать, транспортировать и отдавать кислород, с другой стороны - связывать, транспортировать и отдавать углекислоту.

Изменения этой функциональной способности гемоглобина в отношении кислорода, подавление или полное ее выключение, в конечном итоге ведут к кислородному голоданию организма. Именно поэтому, любая работа, посвященная изучению основной функции гемоглобина неизбежно оказывается связанной с вопросами кислородного голодания и тем самым приобретает не только теоретический, но и практический интерес.

Кислородное голодание возникает в организме не только при недостатке кислорода во вдыхаемом воздухе, но и при нарушении процессов, связанных с поступлением кислорода в кровь, с транспортом его или отдачей кислорода тканям, и, наконец, при потере способности тканей воспринимать кислород.

Кислородное голодание, наступающее в результате уменьшения кислорода в крови обозначается термином - аноксемия. Термином аноксия обозначается состояние за-

держки окислительных процессов в тканях. В настоящее время существует несколько попыток дать классификацию различных типов кислородного голодания.

⁽¹⁾
Баркрофт различает следующие типы кислородного голодания:

1. Аноксемический тип - обусловленный уменьшением содержания кислорода в артериальной крови (артериальная аноксемия), вследствие уменьшения парциального давления кислорода, затрудненного дыхания (асфиксии) или вследствие изменения проницаемости легочной ткани для кислорода (легочная аноксемия по Черкесу (2)).
2. Анемический тип, характеризующийся уменьшением кислородной емкости крови вследствие изменений, наступающих в свойствах гемоглобина (гемическая аноксемия). Примерами гемической аноксемии являются карбоксигемоглобинемия и метгемоглобинемия.
3. Ишемический тип, связанный с уменьшением количества циркулирующей крови (циркуляторная аноксемия).
4. Гистотоксический тип, характеризующийся потерей ^{способности} клеток использовать доставляемый кислород, вследствие паралича окислительной системы, например, при отравлении синильной кислотой.

В связи с разработкой нашей темы нас особо интересовали те виды аноксемий, которые вызываются

токсическими причинами.

Черкас (2) эти, так называемые, токсические анемии предлагает разделить на четыре типа.

1. Анемии центростремные, в основе которых лежит воздействие яда на дыхательный центр.
2. Анемии легочные, при которых происходит выключение ядом дыхательной функции легких.
3. Анемии кровяные, при которых выключается способность гемоглобина к переносу кислорода, что зависит или под воздействием гемолитических ядов при превращении гемоглобина в недействительную форму (карбоксигемоглобин, метгемоглобин).
4. Анемии тканевые, наступающие вследствие паралича дыхательного фермента самих клеток организма, под воздействием ядов.

Состояния анемии могут быть подразделены еще и по другому принципу (Владимиров - 3), на общую и локальную анемию.

"Общая анемия" имеет место при отравлениях угарным газом, хлором, фосгеном, при анемии, при горной болезни.

С "локальной анемией" мы встречаемся во многих случаях нарушения кровообращения, при страданиях сердечно-сосудистого аппарата и, наконец при усиленной деятельности некоторых органов, при напряженной мышечной работе.

Как указывают Николаев (4), Энци (5), Куршакон (6)

и друг. абсолютного отсутствия кислорода в крови (аноксемии) или полного отсутствия потребления кислорода тканями никогда не наблюдается. А потому правильное для обозначения состояний уменьшения содержания кислорода в крови, употреблять термин - гипоксемия, и для угнетения тканевого окисления, - термин гипоксия вместо соответствующих аноксемии и аноксии.

Естественно, что гипоксемия - кислородная недостаточность может создать ту или иную степень гипоксии, хотя таковая может иметь место и при нормальном содержании кислорода в крови. На такого рода явление организм отвечает рядом приспособлений ^{для} ~~с~~ целью компенсации этой недостаточности.

Несмотря на то, что в основном изменения обмена веществ одинаковы при последствиях кислородного голодания, вызванного различными причинами, однако не все органы и ткани одинаково чувствительны к недостатку кислорода. Несомненно одно, что те органы, в которых обмен выражен наиболее интенсивно страдают от гипоксемии в первую очередь, и в этих органах особенно резко выражены изменения в обмене веществ.

Наиболее чувствительными по указаниям целого ряда авторов (Баркрофт (1), Орбели (8), Черкев (2), Владимирова (3), Фролов (7), Куршаков (6) и др.) оказываются: центральная нервная система, сердце, печень. Гибель серого вещества головного мозга наступает уже

при сравнительно кратковременном прекращении поступления кислорода.

Петровым (9) была установлена, кроме того, не одинаковая чувствительность различных отделов центральной нервной системы к асфиксии. Он пишет, "резко выраженная чувствительность у полушарий головного мозга и мозжечка, менее чувствителен продолговатый, средний и спинной мозг, т.е. филогенетически наиболее древнее образование центральной нервной системы". Также резко меняется при гипоксемии состояние сердечно-сосудистой системы.

Владимировым (10) (3) и его сотрудниками отмечалось, на больших высотах, увеличение минутного объема сердца, что является благоприятным фактором для снабжения кислородом тканей, а также обращалось внимание на особенное действие сердечных средств на высоте.

Дыхательная недостаточность часто сопутствует ряду патологических процессов и является фактором, изменяющим функциональное состояние организма в целом и сердечно-сосудистой системы, в частности. При гипоксемических состояниях ^{также} отмечают развитие необратимых морфологических изменений в сердечной мышце (Черкас и Розовская-11).

Владимиров с сотрудниками подробно изучал углеводный и жировой обмен при гипоксемии. Эти виды обмена претерпевают особенно значительные изменения. Углеводный обмен помимо своего энергетического значения для

всех систем организма играет особенно важную роль для нервной системы. Клетки этой системы почти не имеют запаса углеводов в виде гликогена и поэтому, в большей степени чем другие, зависят от уровня сахара в крови, а ~~в случаях~~^{при} понижении этого уровня — страдают первыми и в наиболее резкой форме. В этих случаях ^{увеличение в снабжении} нервной ткани углеводами кровяным путем, по мнению Мартинесна (12) можно рассматривать как компенсаторное явление, смягчающее повышенную реакцию нервной ткани на появившуюся кислородную недостаточность.

Понимая этого, многочисленными исследователями показано, что печень является при гипоксемии одним из наиболее уязвимых органов. Поэтому гликогенный запас печени имеет значение не только для всего организма, но и специально для самой печени. От гликогенной функции печени и от наличия в ней запаса гликогена зависит прежде всего нормальное функциональное состояние ее самой.

При гипоксемии Владимировым (3) и его сотрудниками была обнаружена гипергликемия, причем природа этой гипергликемии истолковывалась ими как следствие усиленной мобилизации гликогена, вызванной гипоксемией. Это находится в согласии с давно известным фактом гипергликемии при асфиксии (Данилов — 13).

Владимировым (3) и Дедюлиным (14) при опытах в барокамере, гипергликемия рассматривалась, как характерная черта состояния гипоксемии. Они не находили при гипо-

кислоте значительное повышение уровня молочной кислоты в крови.

Таким образом, кислородное голодание характеризуется усиленным распадом гликогена печени и интенсивным гликолизом. Эти явления, по Мартинсону (12) имеют значение компенсаторных, смягчающих кислородную недостаточность.

Первое, чем реагирует организм на кислородную недостаточность — это усиленная вентиляция легких, которая влечет за собой вымывание углекислоты, и, следовательно, понижение парциального давления ее в легких. Последнее, в свою очередь, вызывает уменьшение содержания как общей углекислоты, так и всех ее форм, результатом чего является сдвиг рН в сторону защелочения. Этот сдвиг трактуется Владимиром (3) как неблагоприятный в смысле снабжения тканей кислородом. На эти изменения организм реагирует (Владимиров (3) ^{на больших высотах} значительным увеличением количества органических кислот ~~на больших высотах~~.

Владимировым также было установлено резкое возрастание количества общего ацетона и β -окси масляной кислоты.

Обычно, недостаточное поступление кислорода компенсируется организмом ускорением кровотока, увеличением массы циркулирующей крови, увеличением числа эритроцитов, количеством гемоглобина и рядом других приспособлений. Это — так называемая ^{в крови} компенсаторная ^{и респираторная} гипоксемия,

←
Как уже указывалось выше все наружные
вращения обуславливаются состоянием
и процессами с одной стороны определя-
ются на свойствах и составе крови,
с другой стороны само иноксеми-
ческое состояние может быть обусловлено
накоплением в организме, так называемых,
кровоящих ядов.

при которой не наблюдается кислородного голодания тканей и патологических нарушений в жизнедеятельности организма.

В отличие от ~~компенсаторной~~^{иробактери} формы, декомпенсированная форма гипоксемии характеризуется болезненными нарушениями, возникающими именно вследствие гипоксии.

Гипоксемическое состояние привлекает к себе внимание многочисленных исследователей еще и потому, что оно особенно отчетливо выявляет значение и оущность регуляторных механизмов организма, а это в свою очередь, облегчает изучение и познание их, так как часто в нормальном состоянии трудно обнаружить ту или иную деталь их действия. Естественно, что все нарушения в организме связанные с гипоксемическим состоянием отражаются прежде всего на свойствах и химическом составе крови. И потому среди различных форм кислородного голодания, особого внимания заслуживают те случаи гипоксемии, которые вызываются различными отравляющими веществами и, в первую очередь так называемыми кровяными ядами, особенно ядами, лишающими гемоглобин его нормальной дыхательной функции.

Яды крови могут действовать двумя путями. Они или повреждают ее форменные элементы или изменяют ее физико-химические свойства. Эти изменения становятся исходным моментом для многих патологических процессов, развивающихся в организме.

Известны три типа ядов крови:

1. Яды гемолитического действия;
2. Яды, изменяющие пигмент крови (гемоглобин) но не разрушающие морфологически эритроцитов. Это так называемые гемические яды;
3. Яды, действующие на костный мозг.

В связи с нашей темой, нас интересовали отравляющие вещества, относящиеся ко второй группе ядов - гемической, т.е. те, которые действуют преимущественно на гемоглобин, лишая его в той или иной степени, способности к дыхательной функции и в особенности вещества, вызывающие образование метгемоглобина.

Мы привели краткий обзор вопросов, связанных с проблемой кислородного голодания для того, чтобы подчеркнуть, что наши собственные опыты, посвященные изучению способности ряда веществ восстанавливать метгемоглобин, следует рассматривать, как опыты, имеющие непосредственное отношение к проблеме кислородного голодания.

Задачей нашего исследования являлось выяснить какие вещества и при каких условиях могут вернуть гемоглобину временно утраченную им способность участвовать в дыхании в том случае, когда при действии некоторых ядов большая часть гемоглобина превращается в метгемоглобин.

Наша работа является логическим развитием той

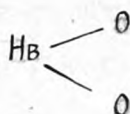
группы исследований по проблеме кислородного голодания, которые в течение ряда лет велись в отделе общей физиологии Ленинградского филиала ВИАМ, руководимыми заслуженным деятелем науки проф. К. М. Биковым, и в особенности, в биохимической лаборатории этого отдела.

Глава I-я.

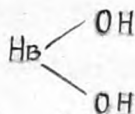
ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР.

Метгемоглобин был открыт Гюнне Зайлером (Günne Zauler) в 1865 г. и им были предложены формулы метгемоглобина: HbO и $HbOH$.

Гальдан (Galdane) (15) предложил несколько иную формулу:



а Зейлек (Zeulek) (16) видоизменил формулу следующим образом:



Исследования Гауровица (Gaurowitz'a) (17), посвященные химии дыхательных пигментов и форме связи в них железа с белковым компонентом выяснили и химическую структуру метгемоглобина. Он считает, что при воздействии на гемоглобин окислителей происходит изменение валентности железа, переход его из 2-х валентного в 3-х валентное. Последнее прочно связывает отрицательно заряженную группу OH и, таким образом, формула метгемоглобина принимает следующий вид - $HbOH$.

Правильность формулы Гюнне Зайлера признают также

и Гейбнер (18) (Heubner), Менер (19) (Meyer) и Кюстер (20) (Küster).

Кюстер (18) считает, что метгемоглобин является изомером оксигемоглобина, содержащим 3-х валентное железо.

Рейнбольд (21) (Reinbold) предислагает, что количество кислорода в метгемоглобине меньше чем в оксигемоглобине не один атом и что кислород в метгемоглобине находится в более прочной связи и поэтому не может быть использован для тканевого дыхания.

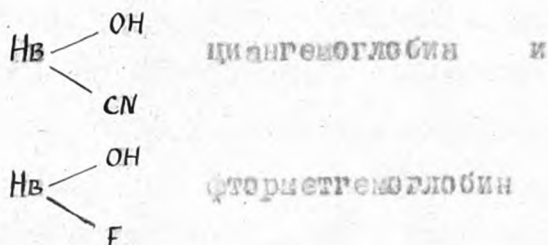
Таким образом метгемоглобин по современным воззрениям в отличие от гемоглобина является производным не 2-х валентного, а 3-х валентного железа и будучи продуктом окисления гемоглобина содержит в своей молекуле прочно связанный кислород в кетонной или энольной форме:



Дилшицом (22) (Dilshitz) были установлены спектрофотометрически как химические индивидуумы в виде кристаллов следующие пигменты превращения гемоглобина: карбоксигемоглобин, метгемоглобин, нитрогемоглобин, циангемоглобин, сульфогемоглобин, фтористгемоглобин. Необходимо отметить, что в литературе мы встречаемся с некоторыми противоречиями по поводу производных метгемоглобина.

Зейнек (16) признает существование циангемогло -

бина и дает формулу - ~~снх~~ ; Липшиц и Гаровиц (17) присоединяются к его мнению. Однако, Гаровиц исходя из формул



предполагает что формула СННв идентична формуле СNMtHв .

Генбнер и Кейр, Куде (Коса) (23) считают, что в настоящий момент можно с уверенностью говорить только о существовании СNMtHв независимо от того, существует или нет СННв .

Упомянутые выше авторы указывают на то, что не гемоглобин, а метгемоглобин предупреждает токсические процессы, вызываемые цианидами калием, сероводородом и фтористым водородом. И, вследствие этого, приведенные авторами данные достаточно доказательны для обоснования тех производных метгемоглобина, которые Липшиц считал несуществующими (цианметгемоглобин и сульфометгемоглобин).

В настоящее время метгемоглобинообразователями считаются следующие вещества: нитросоединения бензола (нитробензол, динитротолуол, нитрофенолы, нитрохлорбензол), аминосоединения бензола (анилин, нитроанилин), тринитрометан, нитроглицерин, фенилгидразин, амилнитрит, ацетанилид, пирагаллол, ортоформ, красная

кислотная соль, бертолле́товое железо, хлоризвещенное железо, нитриты, нитраты, нитрогазы, фенол, этилфенол, перекись водорода, озон, мышьяковистый водород, фосфорный водород (фосфин), палладиевый водород, а также сульфиды (сульфиды, сульфиды, стронтиды) и т.д.

Образование метгемоглобина может быть вызвано также и эфиром и хлороформом.

Все перечисленные вещества относятся к так называемым экзогенным метгемоглобинообразователям. Наряду с этим метгемоглобин был обнаружен также в некоторых случаях при эклампсии, при пневмококковой инфекции, он может образовываться и в случаях кишечной интоксикации.

Метгемоглобин появляется в местах кровоизлияний, где, вследствие гибели клеток, интенсивно протекают процессы аутолиза.

Боссовым (24) в опытах *in vitro* обнаружено, что фильтраты, приготовленные из органов животных и из растений, при контакте с кровью образуют метгемоглобин. При кипячении такого рода фильтратов их метгемоглобинообразующая способность уничтожается в животных фильтратах, или снижается в растительных. Целый ряд веществ способствует повышению метгемоглобинообразующей способности этих фильтратов. Особенно интенсивно действует серная кислота, слабее - фтористый натр,

сернистый марганец, n/50 NaOH. Сочетание метгемоглобинемии с токсикозами беременности, связанными также с поступающими в кровь в избыточном количестве продуктами метаболизма наводит на мысль, что эндогенные метгемоглобинообразователи нужно искать среди продуктов клеточного распада.

На основании данных этих опытов Косыков (24) делает вывод, что продукты белкового, жирового и углеводного обмена веществ (триптофан, гликоколл, ацетальдегид, глицерин) обладают способностью образовывать метгемоглобин при контакте с кровью.

Выяснение значения и сущности эндогенного метгемоглобинообразования важно для освещения проблемы патогенеза ассоциальных метгемоглобинемий, потому что некоторые из метгемоглобинообразователей применяются как терапевтические средства, и при длительном применении ведут, изредка, к метгемоглобинемии.

Большинство же из этих веществ имеет значительное применение в химической индустрии и может вызывать промышленные отравления. Мощное развитие химической промышленности, в частности, производство ароматических соединений анилина и его производных связано с известной опасностью профессиональных отравлений, характеризующихся образованием метгемоглобина в крови. Метгемоглобин, как и карбоксигемоглобин — бездейственный пигмент, он не может транспортировать кислород

и в случае его образования в организме наступает кислородное голодание со всеми вытекающими отсюда последствиями, со стороны, сердечно-сосудистой, нервной и др. систем организма. явления отравления развиваются уже при превращении 40% гемоглобина в метгемоглобин. Насыщение крови метгемоглобином до 60 % ведет к явлениям асфиксии вследствие неспособности его к обратному ^{или} присоединению и отщеплению кислорода.

Организм, поставленный в условия метгемоглобинемии страдает от аноксемии гемического типа и обычно погибает, когда процент метгемоглобина в крови переходит за 60.

Доказательством гипоксемии является понижение кислородной емкости крови, появление одышки и тахикардии (Бусяков - 25).

Все ткани и клетки оказываются в условиях кислородного голодания. Первые явления (потеря сознания, коматозное состояние, судороги и т.п.) и последующие стойкие изменения нервной системы (параличи и т.п.) объясняются функциональными и органическими изменениями, которые произошли в нервных центрах под влиянием кислородного голодания.

Метгемоглобин образуется внутриклеточно в эритроцитах и обычно не вызывает непосредственно гемолиза. Кровь приобретает шоколадно-бурую окраску (оттенки зависят от степени превращения гемоглобина в метгемоглобин). Кожные и слизистые покровы становятся

цианотично-серыми, особенно ярко это бывает выражено на слизистой рта, губ и языка, а также на кончиках ушей и пальцев.

Процесс образования метгемоглобина в значительной степени выяснен работами Гейбнера, Мейера и Липшица. По их мнению окислительный процесс обязан не только и может идти в присутствии молекул кислорода или без него. В последнем случае, кислород доставляется тем окислителем, который сам восстанавливаясь освобождает кислород и отдает его гемоглобину. В других, более частых случаях по Гейбнеру и Мейеру происходит одновременное окисление ядовитого соединения и гемоглобина ("dekorrelate oxidation"). Ядовитое соединение окисляясь "активирует" кислород и, таким образом, благоприятствует окислению гемоглобина в метгемоглобин. В свою очередь гемоглобин способствует окислению ядовитого вещества. Окисление гемоглобина может быть вызвано, как мы уже видели, из перечисления метгемоглобинообразователей, и окислителями и восстановителями. Условием действия восстановителей является предварительное активирование кислорода. Этот процесс трактуется Липшицем таким образом, что что во взаимно связанной реакции половина кислорода расходуется для окисления гемоглобина, а другая половина для окисляющегося метгемоглобинообразователя. Гемоглобин в этой реакции является катализатором реакции собственного окисления.

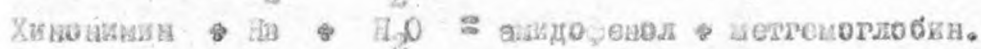
В подтверждение вышесказанного приводятся следующие

щие доказательства. Такие вещества как анилины и другие ароматические соединения, амины, нитросоединения бензола, ведущие к образованию метгемоглобина в организме, *in vitro* метгемоглобина не образуют. В организме же они подвергаются предварительному окислению в результате чего образуются промежуточные продукты, обладающие метгемоглобинообразующими свойствами.

Липшиц считает одним из таких промежуточных продуктов фенолгидроксиламин.

Таким образом, ароматические нитросоединения, а также и производные анилина не являются непосредственными ядами крови, но под влиянием одновременно окисляющего и восстанавливающего действия живых клеток они переводятся в соединения гидроксиламина (Вилланд / *Wieland* / - 26). Последние же, даже в виде следов сейчас не превращают оксигемоглобин в метгемоглобин (Липшиц (27) и Эллингер / *Ellinger* / - 28).

Таким образом ароматические нитросоединения так же, как производные анилина сами по себе не способны вызывать превращения гемоглобина в метгемоглобин. Метгемоглобинообразующее действие принадлежит их производным - гидроксиламину и хинонимину (Мейер (19), Гейбнер (18), Липшиц (29)). Процесс образования метгемоглобина под влиянием анилина идет фактически за счет хинонимина (Гейбнер (18)). Он считает, что процесс идет следующим путем:



К тем же выводам приходят Генблер и Мейер (23)

Выделить фенилгидроксиламин, как действующее про -
мечуточное вещество, удалось Дильшицу при воздействии

динитробензола на измельченную мышечную массу и
Эллингеру при введении ацетанилида в кровь животному.
Фенилгидроксиламин образуется одинаково из более вы -
сокоокисленных веществ путем восстановления и из ме -
нее окисленных путем окисления.

Рассмотрим для примера нитробензол и анилин. Первое
соединение путем восстановления, второе путем окисления
превращаются в фенилгидроксиламин, последний превра -
щается в азоксибензол, действием активированного ки -
слорода и является, таким образом, носителем метгемо -
глобинообразующих свойств обоих ядов.

Этот механизм образования метгемоглобина одина -
ков для отравления анилином и нитробензолом.

Механизм метгемоглобинообразования не одинаков
во всех случаях. Бертолле́товская соль - энергичный оки -
слитель и образование ею метгемоглобина может быть
объяснено этой окислительной способностью.

По мнению Р.Л.Мейера (30) действие хлоратов осно -
вано на окислении ферри-формы в ферро-форму.

Наряду с ядами-окислителями, как было уже упомяну -
то выше, могут быть яды восстановители. Однако и в

этих случаях превращения гемоглобина в метгемоглобин является процессом окислительным.

Гейбнер и Нейер выяснили, что образование метгемоглобина с помощью восстанавливающих агентов AsH_3 , PH_3 , FeH_3 , фенилгидразина, гидроазобензола, аминокетолов и др. происходит при обязательном участии кислорода, при чем гемоглобин, катализируя окисление этих веществ сам делается жертвой своего катализа. Это объяснение в настоящее время общепринято.

Анилин — прежде всего кровяной яд. Его попадание в организм ведет к образованию метгемоглобина. Но кроме изменений пигмента и уменьшения количества гемоглобина и эритроцитов, наблюдаются еще и своеобразные изменения в эритроцитах. Анилин, нитробензол и бертеллетова соль обладают и гемолизирующим действием, что при значительной концентрации яда ведет одновременно и к метгемоглобинемии, метгемоглобинурии и острой анемии.

Часто явления отравления анилином и тяжелые последствия этого отравления связаны не с образованием метгемоглобина и кислородным голоданием, а с непосредственным действием анилина на организм. Большинство авторов считает, что анилин является ядом для центральной нервной системы независимо от действия на кровь (Гейбнер, Невин (Knoor 31), Леман (Lehmann, 32).

Таким образом, нитробензолы, анилин и его произ-

водные и т.п. обладают самостоятельным (но исторически) действием на нервную систему, что объясняет целый ряд симптомов, которые не могут быть объяснены наличием кислородного голодания.

Наряду с этим экспериментальные и клинические наблюдения, посвященные токсикологии нитрохлорбензола прямо или косвенно указывают на то, что острое отравление нитрохлорбензолом характеризуется явлениями кислородного голодания. Наблюдается хорошо выраженный цианоз, одышка и т.п.

Дунаевский (35), Говорчук (34), Дубашинская (35), Ленин (36) при отравлении нитрохлорбензолом наблюдали резкое снижение кислородной емкости крови, которое развивалось наряду с появлением метгемоглобина.

Тлюри (Tlury - 37) на основании своих наблюдений над действием нитрогазов (окислов азота), во время войны 1914 - 1918 годов пришел к заключению, что в токсическом действии различных нитрогазов существуют значительные отличия, *что* токсические отравления нитрогазами могут проявиться в различных формах. Тип отравления зависит от состава смеси нитрогазов, в частности от преобладания окиси азота (NO) или двуокиси азота (NO_2). Действию окиси азота он приписывал развитие сильного цианоза, появление судорог и параличей. Действию двуокиси азота - раздражение слизистых оболочек и смерть от отека легких.

Мессер (Messer - 38) подтвердил эту разницу в токсическом действии и нашел, что окись азота до

сравнению с двуокисью обладает большой токсичностью, большой способностью образовывать метгемоглобин и бо-
лее сильным действием на центральную нервную систе-
му. Закусов (39) провел работу по изучению действия
нитрогенов с точки зрения их качественного состава.
Оказалось, что если в смеси преобладает двуокись азо-
та, то имеются, как следствие ее воздействия признаки
резкого раздражения слизистых оболочек глаз, носа,
рта. Общие явления отравления были выражены слабее
в случае воздействия двуокиси азота, чем при воздей-
ствии окиси азота, даже при больших концентрациях
двуокиси азота. В случае преобладания в смеси окиси
азота, следствием отравления является наличие метге-
моглобина в крови и развитие всех явлений с ним свя-
занных. Общую токсичность окиси азота Закусов считает
в два раза большей по сравнению с двуокисью азота.

Паряду с проявлением вредных, для организма,
свойств метгемоглобина, интересным и замечательным
является тот факт, что метгемоглобин является могучим
противоядием при отравлениях ядовитыми веществами,
как-то: сероводородом, фтором, азидом натрия и т.п.,
а в особенности синильной кислотой.

Еще в 1891 г. Роберт (Robert - 40) показал, что
метгемоглобин легко вступает в реакцию с синильной ки-
слотой.

В 1929 г. Георги и Младовану (Gheorghiu и. Mlade-
weanu - 41) обнаружили, что нитрит натрия является мощ-

ним противоядием при отравлении синильной кислотой. Нитрит натрия в 15 - 20 раз менее токсичен чем цианистый натр.

Тугом (вуг'ом - 42) установлено, что 5 мгр. нитрита натрия на килограмм веса, спасает собаку от 4-х кратной смертельной дозы синильной кислоты. По механизму и причинам обезвреживания не были ясны.

Туг в 1932 г. предположил обезвреживающее действие нитрита натрия его восстанавливающим свойством. Но уже в 1933 г. он не установил, что обезвреживание синильной кислоты связано с метгемоглобинообразованием. Данные Туга были подтверждены Бенделем (43) в 1933 г.

Особенно большая заслуга в изучении и разработке вопроса антидотного действия метгемоглобинообразователей принадлежит школе нашего советского ученого В.И. Карасик (44). Им, его учениками и сотрудниками (Белохорова, Ромков, Виноградова, Слизнова, Чистяков, Розенберг, Мещеряков-Штейнберг, Остренко, Харлазов) было окончательно подтверждено и доказано, что метгемоглобин предупреждает токсические процессы, вызванные синильной кислотой, сероводородом, фтористым натрием.

Берлингом (keilin - 46) в 1935 г. *in vitro* было показано, что метгемоглобин легко соединяется с азидом натрия.

Розенбергом (47) был установлен ^{2-го} профилактический эффект введения нитрита натрия ^{можно} в целях предупреждения смерти мишей при отравлении ^{НБК} азидом натрия.

Еще в 1890 г. Гоппе-Сайлер и Араки (Араки - 48) обнаружили, что сероводород может вступать в реакцию с метгемоглобином. Однако, Ойвингом (49) оспаривается механизм воздействия метгемоглобина как противоядия при отравлении сероводородом в смысле образования сульфметгемоглобина; он считает, что, повидимому, в организме роль метгемоглобина сводится к окислению сероводорода, так как сульфметгемоглобин, в количествах, улавливаемых спектрофотометрически, при этом не образуется. Но им не показано, что собаки хорошо переносят введение 3-х кратной смертельной дозы сульфида натрия, если около 50% гемоглобина крови переведено в метгемоглобин.

Необходимо однако отметить, что значение нитрита натрия при отравлении сероводородом имеет только профилактическое значение. Его малая терапевтическая ценность объясняется тем, что практически отравление сероводородом возможно только через дыхательные пути и что это отравление развивается быстрее, чем образуется метгемоглобин в крови.

К числу химических веществ, имеющих большое значение в интересующей нас проблеме относится синильная кислота.

Синильная кислота - сильнейший тканевый яд, лег-

ко вступающие в соединение с тканевыми, дыхательными пигментами и парализующие тем самым тканевое потребление кислорода. Синильная кислота в 15-20 раз более токсична чем нитрит натрия.

Карасик (44) пишет: "Вводя в организм нитрит натрия и превращая часть гемоглобина в метгемоглобин, мы создаем в организме новый субстрат, связывающий синильную кислоту подобно железопорфириновому комплексу тканей. Снижение концентрации синильной кислоты в крови ведет к переходу ее из тканей в кровь и тем самым прекращает взаимодействие ее с дыхательным пигментом. Один яд, выведя из строя известный процент гемоглобина, спасает ткани от яда гораздо более опасного".

Младовану и Георги считают нитрит натрия лучшим противоядием при экспериментальном отравлении цианидами. По сравнительным данным, самым действительным способом борьбы с отравлениями цианидами оказалось внутривенное введение от 2 до 5 мл. в минуту 3%-ного раствора нитрита натрия и сейчас же следом за ним 10%-ного раствора гипосульфита (Майер и Готлиб (45)).

Естественно предположить, что во всех случаях метгемоглобинемии должен изменяться обмен веществ. ~~При метгемоглобинемии складывается следующий цикл: гемоглобин + кислород + организм = метгемоглобин + вода + продукты обмена.~~

Прежде всего, при острых отравлениях организма с образованием метгемоглобина, отмечают гипергликемию, гликозурию, увеличение количества молочной кислоты в крови и т.п.

Вопросом состояния обмена веществ при метгемоглобинемии посвящена работа Мартинсона с сотрудниками (49), в которой имеются данные о состоянии главным образом углеводного и, частично, жирового обмена об изменении рН, CO_2 и т.д.

В связи с нашей темой особый интерес представляет изучение состояния обмена углеводов, ввиду несомненной связи его с биологическим механизмом восстановления метгемоглобина. По данным Мартинсона, во всех случаях экспериментально вызванной метгемоглобинемии, имела место гипергликемия, величина которой зависела от количества вводимого нитрита, т.е. от степени метгемоглобинемии, а, следовательно, и от степени кислородной недостаточности.

В опытах с введением сублетальных доз нитрита, т.е. при резко выраженной метгемоглобинемии, гипергликемия достигает особенно высоких цифр, на много превышая почечный порог для сахара крови.

Этот факт выходит в согласии с данными Владимирова (см. выше) при кислородном голодании как в альпийских экспедициях, в условиях высокогорья, так и в барокамере при разрежении, соответствующей высоте в 6000 метров.

В виду особо резкой степени кислородного голодания в опытах Мартинсона при метгемоглобинемии, величина гипергликемии в его опытах значительно выше.

Мы позволим себе привести таблицы опытов Мартинсона, Владимировой и др., в виду того, что работа известна только в рукописи. Табл. 4 и 5. ^x

Мартинсон высказывает предположение, что при столь высокой гипоксемии, которая имела место в их опытах, причиной гипергликемии является не только усиленный распад гликогена в печени (как уже нами указывалось выше, Владимирова считал, что гипергликемия в условиях высокогорья является следствием усиленной мобилизации гликогена), но и следствием пониженной способности тканей окислять углеводы, результатом чего должно быть накопление в крови конечного продукта анаэробной фазы углеводного обмена — молочной кислоты, что и было обнаружено в их опытах (табл. 6).

Это опять таки согласуется с фактами, установленными Владимировой в высокогорных экспедициях и Дедюлиным (3) в барокамере. Эти данные могут считаться характерным симптомом гипоксемического состояния.

Таким образом, можно считать установленным факт усиленного распада гликогена печени и интенсификации гликолиза при метгемоглобинемии. Это является, по

^x В настоящее время работа гаснигиса начата в физиологической лаборатории СССР № XXXI, № 3-4, 1945.

оменно, фактором компенсаторным, смягчающим кислородную недостаточность, что является исключительно важным для нервной системы и печени.

Мартинсон очень удачно напоминает положение Пастера, в котором говорится, что принципиально нет клеток, неспособных существовать без кислорода, хотя бы краткое время.

В упомянутой выше работе Мартинсона о затруднении в ряде опытов было обнаружено некоторое увеличение содержания кетон^{овых} тел в крови, что свидетельствует о некотором понижении способности организма окислять жирные кислоты. Это, хотя и косвенно, свидетельствует о нарушениях в углеводном и жировом обмене - в его окислительной фазе.

Что касается изменений газового состава крови и величины рН при кислородном голодании, то и в этом случае, данные, полученные Мартинсоном при метгемоглобинемии также ~~согласуются~~ ^{соответствуют} данным Владимирове, Дедулина и др.. Это, во первых, вполне понятное резкое снижение кислорода в крови, во вторых, наблюдаемое постоянно при метгемоглобинемии уменьшение содержания угольной кислоты. Последнее может зависеть, по мнению Мартинсона, от двух причин: накопления молочной кислоты и задержки углекислоты благодаря усиленной легочной вентиляции.

Что касается величины рН, то при метгемоглобинемии также имеет место повышение рН, как и в случаях высокогорья.

Наблюдая за поведением животных и людей, отравленных различными метгемоглобинообразующими ядами, тем или иным путем попавшими в организм (ингаляционно, через кишечный тракт, или непосредственно интравеннозно) можно обнаружить следующее:

Вслед за попадением яда в организм замечается появление метгемоглобина в крови, количество которого достигает через некоторое время своего максимума, после чего эта величина начинает снижаться и через некоторое время (весьма различное) метгемоглобин исчезает совершенно.

Характер кривой метгемоглобинообразования зависит как от рода метгемоглобинообразователя, концентрации его и длительности воздействия, температуры, предварительного состояния эритроцитов, так и от способа введения.

Помимо этого на характер метгемоглобинообразования влияют видовой и индивидуальные особенности животного. Для осознания и токсикологии углубленный и биологический (эволюционный) подход является обязательным. Разные виды животных неодинаково реагируют на ядовитые вещества. Сама токсикология дает большой материал, указывающий на количественно и качественно различную чувствительность различных видов животных в отношении ядов. Естественно, что это имеет место и в случае метгемоглобинообразования. Известно, например, что кролики обладают весьма малой склонностью к метгемоглобинообразованию (Косяков) (24). Даже

в серии животных одного и того же вида, получающих один и тот же метгемоглобинообразователь, в одной и той же дозировке, рассчитанной на килограмм веса, имеются различия в кривых метгемоглобинообразования (Мартинсон).

Обычно метгемоглобин, по мере прекращения поступления яда снова восстанавливается в гемоглобин. По этому процессу совершается постепенно и требует некоторого времени.

По данным Гельман (50) - отравленные анилином теряют свой метгемоглобин лишь через 8 - 10 часов, иногда в течение 24 - 30 часов; в легких случаях отравления - через 3 - 4 часа. При острых отравлениях нередко метгемоглобин держится в крови в течение нескольких суток.

Удаление метгемоглобина из крови обусловлено различными факторами; в случаях гемолиза, например, метгемоглобин частью выделяется почками (метгемоглобинурия, частью перерабатывается в ретикуло-эндотелиальной системе и в печени, выделяясь с желчью. ~~При этом в процессе регенерации метгемоглобина была обнаружена роль~~

В одной из своих работ Косяков (24) высказывает предположение, что образование метгемоглобина представляет собой надленно протекающий физиологический процесс, не обнаруживаемый в норме потому, что процесс восстановления метгемоглобина превалирует над процессом образования метгемоглобина.

Вообще процесс биологического восстановления метгемоглобина в гемоглобин привлекал и привлекает к себе большое внимание, в особенности в последние годы. И в настоящее время выясняются факторы, которые могли бы задержать образование метгемоглобина, или способствовать его восстановлению в гемоглобин.

Факт спонтанного восстановления метгемоглобина был установлен Дитрихом (Dittrich) (50) в 1892 г. и Арном (Aron) (52) в 1906 г. При экспериментально вызванной метгемоглобинемии у собак и кошек, они наблюдали через 2 - 3 суток полное превращение метгемоглобина в гемоглобин. Этими фактами и было положено начало изучению вопроса о механизме биологического восстановления метгемоглобина.

В выяснении сущности этого механизма большую роль сыграли работы Баррона и Гарроп (Barron u. Harrop) (53) и Зигельгардт (54), в которых независимо друг от друга было обнаружено усиление дыхания безъядерных эритроцитов кролика в присутствии глюкозы при прибавлении нитритозной соли, что выражается усиленным поглощением кислорода и подавлением образования молочной кислоты за счет образования пировиноградной кислоты.

Для выяснения природы этого процесса следует обратить внимание на тот факт, что это усиление интенсивности дыхания, относится главным образом, к

без"ядерным эритроцитам, на дыхание же ядерных эритроцитов, метиленовая синь не оказывает почти никакого влияния.

Баррон и Гаррон было высказано предположение, что метиленовая синь играет роль переносчика кислорода, заменяя какое то вещество, исчезнувшее у зрелых без"ядерных эритроцитов, и восстанавливая активность последних до степени, свойственной молодым незрелым формам и ядерным эритроцитам птиц.

У ядерных эритроцитов метиленовая синь не повышает интенсивности дыхания, так как и без нее демеолятический процесс идет по окислительному пути.

У эритроцитов млекопитающих система "переносчик - дыхательный фермент" слабо развита, метиленовая синь как бы заменяет эту систему и сдвигает распад сахара в сторону окисления, результатом чего и является усиление дыхания.

Варбург, Кубович и Христиан (Warburg, Kubowitz u. Christian) (55) показали, что важным звеном в осуществлении метиленового катализа у эритроцитов является гемоглобин.

По их мнению метиленовая синь окисляет двухвалентное железо гемоглобина в трехвалентное ^{мет} гемоглобина, который в свою очередь окисляет углевод, останавливаясь при этом в гемоглобин.

В результате глубокого изучения этого вопроса Варбургом была предложена известная схема биологи -

ческого восстановления метгемоглобина в гемоглобин, пользующаяся признанием до настоящего времени.

Центральное место в этой схеме занимает превращение метгемоглобина, образуемого метиленовой синью. Образующийся таким путем метгемоглобин окисляет глюкозу.

Метиленовая синь, восстановленная при окислении гемоглобина в метгемоглобин, в лейко-форму окисляется кислородом, в силу чего и повышается интенсивность дыхания.

Схема Варбурга была представлена им в следующем виде:

метиленовая синь + гемоглобин + вода = лейко метиленовая синь + метгемоглобин.

Метгемоглобин + углевод = гемоглобин + продукт окисления углевода + H_2O

Лейко-метиленовая синь + кислород = метиленовая синь + вода.

Таким образом Варбург установил, что метгемоглобин в эритроцитах способен, по его же собственному выражению, окисить глюкозу, восстанавливаясь за счет ее в гемоглобин.

Среди продуктов окисления глюкозы Варбург обнаружил CO_2 и пировиноградную кислоту, которую он изолировал в виде фенолгидрохлора.

Естественным следствием этих данных явилось предположение, что глюкоза может оказаться восстанавливающим агентом метгемоглобина, что и повело к появлению целого

ряда экспериментальных работ, посвященных этому во -
просу.

Брука (56) обнаружил способность глюкозы восста -
навливать метгемоглобин в гемоглобин в опытах на кро -
ликах.

Сущность действия глюкозы, по его мнению, заклю -
чается в том, что глюкоза создает в растворе такой
редко потенциал, который уже сам по себе способен за -
вызвать восстановление метгемоглобина.

Аналогичные данные были получены Косаковым (24)
на собаках. Далее, Бендель (43) показал, что субстратом
восстановления метгемоглобина может служить молочная
кислота, окисляющаяся при этом в пирувинуградную.

Напотом (57) было проведено подробное исследова -
ние роли левтата в биологическом механизме восстано -
вления метгемоглобина. Свои опыты Напот производил, глав -
ным образом, *in vitro*. Опыты ставились с отмытыми эри -
троцитами кролика; образование метгемоглобина вызыва -
лось постепенным отмытием эритроцитов с 0,02 н. нитри -
та натрия (приготовленного на физиологическом растворе)
при 37° в течение 30 минут. Затем эритроциты 4 раза от -
мывались от нитрита на центрифуге физиологическим ра -
створом. Из метгемоглобинизированных эритроцитов гото -
вился суспензия, добавлялись равного объема Ридгеров -
ского раствора.

Длительность опыта не превышала 4-х часов и за
это время Напот не наблюдал уменьшения количества мет -

гемоглобина, на основании чего им и был сделан вывод, отрицающий спонтанное восстановление метгемоглобина в гемоглобин.

Исследуя скорость восстановления метгемоглобина в гемоглобин при прибавлении к суспензии метгемоглобинизированных эритроцитов глюкозы и лактата, Шапот пришел к заключению, что скорость восстановления метгемоглобина в гемоглобин с помощью лактата оказывается в 2 раза большей по сравнению с глюкозой. Он высказывает при этом предположение, что в присутствии глюкозы восстановление метгемоглобина в гемоглобин происходит кооперным путем, за счет лактата, образующегося в результате гликолиза. Он не сомневается в наличии связи между восстановлением метгемоглобина и явлением гликолиза. Он трактует эту связь двояко: либо основным веществом за счет окисления которого восстанавливается метгемоглобин, является конечный продукт гликолиза - молочная кислота, либо этим веществом служит какой то промежуточный продукт гликолитического распада сахара. Это опыты подтверждают первое предположение. Это подтверждалось накоплением пировиноградной кислоты, как продукта окисления молочной кислоты.

В настоящее время установлено Конантом и Флиезером (Conant & Flieser) (58), что для превращения гемоглобина в метгемоглобин требуется один водородный эквивалент, перенос одного электрона, что вызовет переход двухвалентного железа гемоглобина

в трехвалентное метгемоглобин.

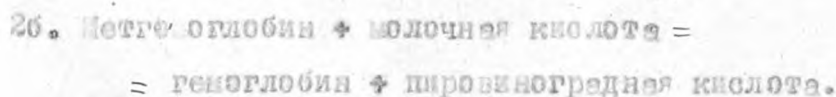
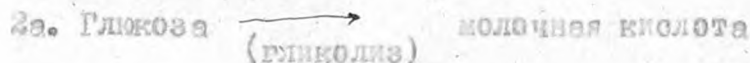
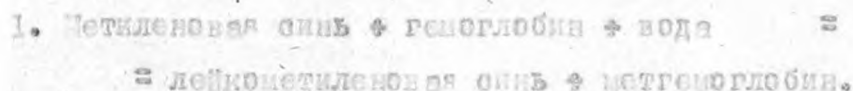
Окисление же лактата в пируват требует 2-х водородных эквивалентов.

При наличии стехиометрических отношений число молекул, восстановленных метгемоглобином должно относиться к числу молекул образующегося пирувата как 2:1, что и было обнаружено Шапотом. Реакция восстановления метгемоглобина лактатом им рассматривалась как специфическая биологическая реакция.

in vivo

В немногочисленных ориентировочных опытах Шапот нашел также, что у кроликов лактат восстанавливает метгемоглобин значительно быстрее, чем глюкоза.

Таким образом, на основании этих исследований, Шапот делает вывод, что основная реакция за счет которой происходит биологическое восстановление метгемоглобина является дегидрирование молочной кислоты в пировиноградную и в силу этого, он соответственно видоизменяет схему Вербурга.



Мы еще вернемся к подробному обсуждению результатов опытов Шапота и его данных.

Приведенный обзор литературы показывает, что несмотря на значительное количество работ, посвященных метгемоглобину, до сих пор существует много неразрешенных *вопросов*. Среди них особый интерес и практическое значение представляют вопросы, связанные с восстановлением метгемоглобина.

В нашей экспериментальной работе мы и сделали попытку выяснить роль глюкозы, лактата и метилоновой соли как восстановителей метгемоглобина. При этом мы уделили особое внимание действию этих веществ *in vivo*, полагая, что именно в этих условиях, правильнее всего изучать действие восстановителей и, что принятая методика обеспечит возможность воссоздать действительные пути восстановления метгемоглобина в целом организме при об"единенном воздействии всех факторов. Опыты *in vitro* в нашей работе имели лишь вспомогательный характер.

Глава II.

МЕТОДИКА И МАТЕРИАЛ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Все наши опыты *in vivo* были поставлены на собаках. Для опытов обычно выбирались крупные экземпляры, весом не менее 12 - 17 кгр. Собака, без наркоза при - вязывалась к общему операционному столу. Шерсть в области паха выстригалась, выбривалась и кожа обрабаты - валась сначала спиртом, а затем йодом. В указанной об - ласти находилось место, где при ощупывании явственно ощущался пульс *art. femoralis* и над нею стерильным ин - струментом делался надрез кожи. Быстро, в течение не - скольких минут обнажались бедренная артерия и вена и под оба сосуда подводились лигатуры. Лигатура на вене не завязывалась. На артерии лигатура завязывалась, не - сколько возможно дистальнее. Центральнее, наложенной на артерию лигатуры накладывался зажим Дифференбаха. Ар - терия прорезалась и в ее центральный конец вводилась стеклянная канюля, соответствующего диаметра. Затем на канюлю надевалась резиновая трубка, такой длины, чтобы она позволяла беспрепятственное и быстрое взя - тие крови, прямо из артерии в пробирки с стабилизато - ром под слоем заранее налитого парафинового масла.

Каждый раз, перед взятием очередной порции крови (если между ними проходил значительный отрезок вре - мени), канюля и резиновая трубка тщательно очищались

от остатков крови предыдущего забора. Первые порции крови (3-5 мл.) выпускались лямпо пробирки в специальный сосуд и только последующая забиралась в пробирку под олой масла и стабилизатора и служила для анализа.

Раствор нитрита натрия (который всегда готовился *ex tempore*) и другие, употребляемые нами в опытах вещества, вводились с помощью шприца через прокол бедренной вены в кровь.

В промежутках между взятием очередных порций крови, рана прикрывалась стерильным компрессом, смоченным физиологическим раствором.

По окончании опыта на *ext. femoralis* накладывалась лигатура, затем накладывались швы на мышцы, фасции и кожу. В большинстве случаев заживление раны происходило *per primam*.

Так как для опытов нами выбирались крупные собаки и общее количество крови, взятое в течение всего опыта не превышало в среднем 100 мл., то наши животные обычно (исключая опытов с заранее назначенным летальным исходом), использовались для подобной операции неоднократно.

Количество гемоглобина и метгемоглобина определялось методом ван-Слайка. Мы избрали этот метод как наиболее точный по сравнению с спектрофотометрическим и колориметрическим.

Шанотом (57) была проведена сравнительная проверка этих трех методов, в результате которой он пришел к определенному заключению о преимуществах метода ван-Слейка. В качестве примера, мы позволим себе привести таблицу Шанота, которая показывает результаты его опытов по проверке методов определения метгемоглобина, колориметрического, спектрофотометрического и ван-Слейка. Как видно из таблицы при высоком содержании метгемоглобина показания всех трех методов достаточно близки при низких же концентрациях метгемоглобина колориметрический метод становится ненадежным.

Т а б л и ц а.

Сравнение методов определения количества метгемоглобина.

Опыт.	Колориметрический метод	Спектрофотометрический метод	Газометрический метод.
А	75	71	72,4
Б	5	16	15,2

Манометрический газометрический аппарат ван-Слейка отличается от объемного аппарата тем, что извлечения при встряхивании в вакууме газы, приводят к определенному объему и количество их определяется по давлению, отсчитываемому по манометру, соединенному с

аппаратом. Это делает газометрический прибор более точным, так как предел ошибки при измерении давления газа по манометру в десять раз меньше, чем при измерении его объема. Аппарат применяется во всех случаях, когда конечным пунктом является газ, или же когда конечный продукт может вступить в количественную реакцию с образованием газа. Таким образом, в этом аппарате можно кроме газов крови определять количества гемоглобина, общего азота, мочевины, сахара, кальция, нуклеотидов, сульфатов и др. Главными составными частями аппарата являются экстракционная камера и закрытый манометр, соединенные между собой. Экстракционная камера представляет собой пипетку в 50 мл., суженную у обоих концов. В верхней части камера снабжена двухходовым краном, над ним калиброванной воронкой, служащей для введения жидкостей и отводной трубкой для удаления отработанных растворов. Верхняя часть камеры до края имеет прокалиброванное длинное сужение с небольшим расширением и с двумя отсчетками в 0,5 и в 2,0 мл. Внизу у окончания широкой части камеры имеется отметка в 50 мл. Нижняя часть камеры сужена и на нее одета трубка из плотной вакуумной резины. Для обеспечения полной непроницаемости в отношении воздуха манометрической трубки и камеры, необходимо это соединение камеры с двукратно изогнутой трубкой, сделать из 2-х трубок вакуумной резины, вложенных одна в другую, а пространство между трубками заполнить ртутью. На втором изгибе от манометрической трубки отходят вверх и вниз

два стеклянных отростка с небольшими расширениями на концах. Оба отростка снабжены стеклянными кранами. Кран верхнего отростка служит для выпуска жидкости, которая может быть занесена в манометрическую трубку из экстракционной камеры. Кран нижнего отростка сообщает аппарат с уравнительной группой, соединенной с ним помощью резинового шланга. Собственно манометрическая трубка имеет длину 1 метр. Верхний конец этой трубки также запирается краном. Внутренний диаметр ее равен 4 мм. и в 3-х местах выше и ниже шкалы сужен до 1 - 1,5 мм. для того, чтобы уменьшить напор с которым ртуть давит на кран и ослабить колебания ртути в манометре при отчетах.

Трубка манометра накладывается на полоску зеркала, помещенного в вырез доски, на которой нанесены миллиметровые деления.

Экстракционная камера помещена в стеклянную муфту, наполненную водой, с целью предохранения камеры от внезапных колебаний температуры. Муфта снабжена термометром для отчета температуры при которой ведется анализ. Весь аппарат заполняется ртутью и верхние краны манометра и экстракционной камеры запираются. Все части аппарата прочно закреплены на специальной подготовке. Муфта экстракционной камеры соединяется с помощью металлического кольца с аппаратом для встряхивания, который приводится в действие с мотором.

Для адсорбции паров воды, которые могут проник -

нуть в манометр из экстракционной камеры вводят че-
рез верхний край манометра и через край верхнего от-
ростка крестобразного соединения, по несколько ка-
пель концентрированной серной кислоты или глицерина.
Эти жидкости, время от времени, впускаются в соответ-
ствующие трубки для поглощения паров и затем тщатель-
но вытесняются ртутью в вороночки над краном. Все кра-
ны плотно прижимаются специальной смазкой.

Для отмеривания пробы крови, пользуются Остваль-
довой пипеткой со стеклянным краном. Конец пипетки
снабжен резиновым кольцом-конечником, благодаря ко-
торому проба крови может быть введена в аппарат без
соприкосновения с наружным воздухом.

Метод определения метгемоглобина в аппарате ван-
Слака основан на способности гемоглобина очень легко
связываться с окисью углерода и последующим измене-
нием количества окиси углерода, которое может быть
связано исследуемой кровью непосредственно и после
восстановления приотсутствующего в ней метгемоглобина
гидросульфитом.

Поскольку метгемоглобин окиси углерода не свя-
зывает, то прирост окиси углерода после
восстановления метгемоглобина гидросульфитом, служи-
мерой содержания метгемоглобина в крови.

Ход работы. В камеру *гироксидную* при помощи уравни-
тельной груши при открытом вентиле ("рабочем") и двух-
ходовом кране вводят несколько капель актинового

алкоголя и ртути, после чего рабочий кран закрывается, затем в насадку помещают 3/4 мл воды (без углекислого и др. газов). Последующую кровь ^{-1 мл-} набирают в Оотвальдовскую пипетку точно до верхней метки, кран пипетки закрывают и помещают ее в насадку камеры аппарата таким образом, чтобы резиновое кольцо, одетое на нижний конец пипетки было плотно прижато ко дну насадки камеры. Кран пипетки открывают и удеркивая ее левой рукой в том же положении, правой рукой, осторожно приоткрывая "рабочий" кран вводят кровь в камеру. Когда крови останется нижней метки пипетки, закрывают оба крана, сначала "рабочий", а затем у пипетки.

Небольшое количество крови, удержавшейся на дне насадки в ходе крапа составляет 1-2 мл. воды, находящейся в насадке. К аппарату прикладывают штатив с резервуаром, содержащим окись углерода, отводную трубку которого помещают в насадку (на конец отводной трубки, так же, как и на конец пипетки предварительно одетая резиновое кольцо), плотно прижимая ее ко дну, открывают нижний и верхний краны резервуара и с помощью рабочего крана выпускают в аппарат 2 мл. 00 (резервуар с окисью углерода заранее ^{ли} прокабрирован), что соответствует количеству окиси углерода в 25 мм., этого вполне достаточно для перевода всего плазменного в крови гемоглобина в карбоксигемоглобин. После этого вводят в камеру оставшуюся в насадке воду, наливают в насадку несколько капель ртути, с помощью которой устраивают

как наз. "ртутный занор"; т.е. небольшое количество ртути вводит в оба хода врана, ртуть 1-2 капли оставляет на дне пьедестала, верхний кран пьедестала закрывается, камеру с помощью уравнивательной группы эвакуируют на $1/4$ и пускают в ход мотор. Кровь избыткивается с окисью углерода 3 мин., после чего с помощью уравнивательной группы выводят из камеры избыток окиси углерода. Осторожно доводят уровень крови до возобновления хода врана пьедестала. В пьедестал наливают 1 - $1\frac{1}{2}$ мл. реактива CO (реактив CO состоит из красной кровяной соли и молочной кислоты, готовится следующим образом: 3,3 гр. красной кровяной соли растирают в ступке, приливают 92 мл. воды и 8 гр. молочной кислоты; в темной склянке реактив сохраняется еще 2-х мес.) и 0,5 мл. его осторожно вводят в камеру (рабочий кран). Избыток реактива из пьедестала удаляют "насосиком". Эвакуируют камеру до метки 50 и пускают в ход мотор встряхивают камеру в течение 5 - 10 минут до полного отделения газов. Реэвакуируя камеру до $1/4$, быстро вводят в камеру 0,5 мл. $4N$ хлорида натрия для поглощения вытесненной из крови двуокиси углерода и тут же доводят уровень крови до метки 2, отмечают давление (P_2). Удаляют газы и снова доводят уровень крови до метки 2 - отмечают соответствующее давление (P_1), разность дает значение, отвечающее количеству вытесненной из крови окиси углерода. Соответствующее количество гемоглобина находят по таблице ван-Слейке.

Таким образом производится первое определение. Во втором определении, перед введением окиси углерода вводят гидросульфит, тогда, имеющийся в крови метгемоглобин восстанавливается в гемоглобин и вязкость крови к окиси углерода соответственно увеличивается, теперь она равняется общему количеству гемоглобина. Разность в количествах окиси углерода, поглощаемой во втором и первом определениях соответствует имеющемуся метгемоглобину. Количество метгемоглобина нами рассчитывалось в процентах от общего количества гемоглобина. В некоторых случаях, по чисто техническим причинам, мы изменили порядок работы. Так как нами всегда предварительно определялось этим методом, количество гемоглобина в крови нормального животного, т.е. до введения ему метгемоглобинообразователя, то именно это количество его и принималось нами за 100%. В последующих пробках крови, содержащих метгемоглобин, мы также определяли количество оставшегося гемоглобина и сопоставляя данные о общем количестве гемоглобина вычисляли процент имеющегося там метгемоглобина. Проверяя одни и те же пробы крови обоими методами, мы не нашли разницы и нередко пользовались вторым путем, который требует меньшей затраты времени для проведения анализа и совершенно не нуждается в гидросульфите.

Чистка аппарата должна производиться после каждого анализа. Для этого отработанная кровь и растворы

выпускаются с помощью двухходового крана насадки через отводную трубку в специальный сосуд. Камера промывается водой, затем последовательно слабым раствором аммиака, водой, слабым раствором серной кислоты и снова водой.

После окончания работы аппарат оставляется с аммиаком (очень слабый раствор) на ночь. Утром камера тщательно отмывается от следов аммиака.

Глава II-я.

СПОНТАННОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ МЕТГЕМОГЛОБИНА В ГЕМОГЛОБИН.

Окисление двухвалентного железа гемоглобина в трехвалентное, ведет к образованию метгемоглобина, соединившего, утратившего способность отдавать кислород.

Восстановление окисной формы трехвалентного железа метгемоглобина обратно в закисную двухвалентную форму ведет к восстановлению гемоглобина. Это восстановление может проходить биологическим путем и с помощью сильных химических восстановителей.

Проблема биологического восстановления метгемоглобина имеет большое теоретическое и клиническое значение и поэтому разрешение ее представляет значительный интерес.

Сакurai (59) и др. утверждают, что в крови происходит спонтанное восстановление метгемоглобина. Так, опыт Крузе (Kruze) (60) с эритроцитами показали, что при комнатной температуре *in vitro* может происходить образование оксигемоглобина из метгемоглобина спустя 24 часа.

На основании своих данных Шапот отрицает этот процесс. Он считает, что - "Если взять не кровь, а отмытые безъядерные эритроциты, то на протяжении до 4-х часов никакой убыли метгемоглобина не наблюдается".

С целью проверки этого факта вообще, а также определения скорости спонтанного восстановления метгемоглоби-

на со скоростью его восстановления при применении восстановителей и наблюдения за поведением живот - ных в том и другом случаях, была поставлена серия опытов, служившая контролем. Так как в наших опы - тех мы ставили своей целью изучить влияние на про - цесс восстановления ряда веществ, то мы считали необходимым вначале выяснить, в какой степени и при каких условиях возможно спонтанное восстано - вление метгемоглобина в крови.

Первая серия опытов была посвящена этому во - просу. В качестве метгемоглобинообразователя мы избрали нитрит натрия (NaNO_2).

По литературным данным доза нитрита натрия в 0,06 - 0,07 г/кг веса животного, при подкожном введении, является смертельной.

Наши ориентировочные опыты в этом направлении, показали, что при внутривенном введении собакам 0,05 г/кг. веса нитрита натрия наступает смерть жи - вотного. Это совпадает с данными Дмитриевой (62) и, частично, Васильевой (63). Поэтому мы остано - вились на дозах в 0,046 г/кг - как сублетальной, 0,036 г/кг - средней и 0,023 г/кг - как малой.

Интенсивность метгемоглобинемии исследовалась в течение шести часов после введения нитрита на - трия.

Результаты этих исследований иллюстрируются таблицами № № 1, 2, 3.

Т а б л и ц а № 1

Содержание метгемоглобина в артериальной крови после
введения нитрита натрия
(0,046 кг. на килограмм веса)

№ опыта	Метгемоглобин в % к общему гемоглобину			Примечание
	Время после введения			
	1 ч.	3 ч.	6 ч.	
1.	64,7	41,4	11,4	
2.	42,9	38,2	10,1	
3.	59,1	55,0	37,9	
4.	62,9	-	-	Смерть через 1 ч. 20'
5.	69,0	-	-	Смерть через 1 ч. 15'
6.	60,3	34,4	26,9	
7.	68,0	49,7	20,7	
8.	68,4	-	-	С м е р т ь
9.	50,0	31,8	20,5	
10.	56,7	27,1	12,2	
Средн.	60,2	38,2	19,36	

Т а б л и ц а № 2.

Содержание метгемоглобина в артериальной крови после
введения нитрита натрия
(0,036 гр. на кгр. веса)

№ опыта	Метгемоглобин в % к общему гемоглобину			Примечание
	Время после введения			
	1 ч.	3 ч.	6 ч.	
1.	64,0	37,6	-	
2.	50,0	32,0	-	
Средн.	57,0	34,0		

Т а б л и ц а № 3.

Содержание метгемоглобина в артериальной крови после
введения нитрита натрия
(0,023 гр. на кгр. веса)

№ опыта	Метгемоглобин в % к общему гемоглобину			Примечание.
	Время после введения.			
	1 ч.	3 ч.	6 ч.	
1.	34,6	6,6	-	
2 ч.	22,6	11,7		
3.	33,8	9,9		
Средн.	30,3	9,4		

Как видно из приведенных таблиц интенсивность метгемоглобинемии, во всем обычно отсутствующими ее явлениями, возрастала с увеличением дозы нитрита натрия, а скорость восстановления метгемоглобина, при этом замедлялась.

При введении сублиетальной дозы нитрита натрия - 0,046 гр. на кгр. веса, метгемоглобинemia в среднем достигала 60% от общего гемоглобина и оставалась даже через 3 часа на очень высоких цифрах, в среднем 38%. Полного восстановления метгемоглобина не наступало и через 6 часов. В среднем количество метгемоглобина составляло к этому времени - 30%. Нередко столь высокий процент метгемоглобина вызывала гибель животного между 40 - 80 минутами, после введения нитрита натрия.

Средняя доза нитрита натрия - 0,036 гр. на кгр. веса собаки, также создавала к концу первого часа высокую степень метгемоглобинемии, хотя и несколько меньшую, чем при сублиетальной дозе. К концу третьего часа количество метгемоглобина оставалось несколько меньшим, чем при дозе в 0,046 гр., а к 5 - 6 часам состояние животных было настолько хорошим, что количественного определения метгемоглобина не производилось. При дозе нитрита натрия 0,036 гр./кгр. летальный исход никогда не наблюдался.

Мы имеем основания к такому категорическому заключению ввиду того, что подобного рода опыты прово-

дились одновременно с нами рядом исследователей с различными целями, также никогда не наблюдавшими летального исхода при вышеуказанной дозе. (Биохимическая лаборатория, отдел общей физиологии Ленинградского филиала ВИАМ).

При введении малой дозы нитрита натрия - 0,023гр. на килограмм веса, через час обнаружилось в среднем, только 30,3% метгемоглобина, а через 3 часа - 9,4%.

Результаты наших опытов неходятся в полном согласии с данными других авторов.

Так, Косляков (24) вводил в бедренную вену собак нитрит натрия в количествах 35 мг.; 20 мг. и 7,5 мг. на кгр. веса. Метгемоглобин определялся им по методу Лавровского (спектроскопически). Через 30 минут в опытах с дозировкой 35 мг/кгр. он получал в среднем 65% метгемоглобина, через 3 часа - в среднем 30%. В опытах с дозировкой 20 мг. на кгр. веса через 30 минут в среднем процент метгемоглобина равнялся 40,9%, а через 3 часа - 14%. Никакой *разницы* в поведении животных при дозах в 20 мг. и 7,5 мг. на кгр. веса не было обнаружено. Косляков считает опасным для жизни животного если процент метгемоглобина достигает 60 - 65%.

Дмитрисина вводила в бедренную вену собак нитрит натрия в количестве 50 мг. на кгр. веса. Метгемоглобин также определялся по методу Лавровского. Процент

метгемоглобина достигал к 30 минутам 70 - 78 % и в этот момент, как правило, наступала гибель животного. Подобные результаты получила и Васильева (62).

Как уже нами упоминалось выше Владимирова, Хар-тинсон, Потапова и Уринсон (64) изучая обмен веществ при метгемоглобинемии исследовали в крови содержание сахара и молочной кислоты. Введение различных доз нитрита натрия (46 мг. и 23 мг. на кгр. веса) всегда вызывало гипергликемию, величина которой зависела от количества введенного нитрита натрия (см. табл. 4 и 5), т.е. от степени метгемоглобинемии.

В опытах с введением сублетальных доз нитрита натрия, т.е. при состоянии резко выраженного кислородного голодания, гипергликемия достигает особенно высоких цифр, немного превышая почечный порог для сахара крови. Повидимому, здесь имела место и гликозурия.

Одновременно наблюдалось резкое увеличение количества молочной кислоты (табл. № 6).

По мере исчезновения метгемоглобинемии, как гипергликемия, так и уровень молочной кислоты в крови снижались.

Выше мы подробно останавливались на значении гипергликемии и лактацидемии в процессе нарастания явлений метгемоглобинемии.

Т а б л и ц а № 4.

Изменение содержания сахара в крови после введения нитрита натрия
(0,046 г. на кгр. веса)

№ опыт	Кол-во на кгр. веса гр.	Содерж. сахара до вве- дения нитрита натрия в мг. %	Содержание сахара после введения нитрита натрия					
			1 час.		3 часа		6 часов	
			мг. %	Прирост в %	мг. %	Прирост в %	мг. %	Прирост в %
1.	0,046	103,0	251,0	148,7				
10	"	108,0	230,0	113,4	137,0	73,1	112,0	3,7
11.	"	91,0	174,0	91,2				
12.	"	61,0	196,0	221,0				
15.	"	70,0	150,0	114,0	с м е р т ь			
16.	"	91,0	172,0	88,0	123,0	34,7	148,0	62,3
19.	"	92,0	203,0	120,8	137,0	48,9	108,0	17,3
26.	"	74,0	196,0	164,8	154,0	108,1	85,0	14,9
Сред.		86,2	196,5	132,2	150,2	66,8	113,2	24,5

Таблица № 5

Изменение содержания сахара в крови после введения нитрита натрия
(0,023 г. на кгр. веса)

№ опыта	Кол-во нитрита натрия в г/кг	Содержание сахара до введения нитрита натрия в мг. %	Содержание сахара после введения нитрита натрия			
			Через 1 час		Через 3 часа	
			мг. %	Прирост в %	мг. %	Прирост в %
3	0,023	87	96	10,3	95,5	9,8
4	0,023	71,5	79	10,5	85	18,9
5	0,023	103	145	40,8	136	32,0
Средн.		87,2	106,7	20,5	106,5	20,2

Т а б л и ц а № 6.

Изменение содержания молочной кислоты в крови после введения
нитрита натрия (0,046 гр. на кгр. веса)

№ опыта	Мол-во нитрита натрия в гр. на кг/в	Содерж. молочн. к-ты до введения нитрита натрия.	Содержание молочн.к-ты после введения нитрита натрия опустя							
			30 минут		1 час		3 часа		6 час.	
			мг.%	Прирост в %	мг.%	Прирост в %	мг.%	Прирост в %	мг.%	Прирост в %
20	0,046	28,3	-	-	148,5	424,7	с м е р т ь			
21	"	35,3			74,1	110,0	53,9	52,7	32,0	-9,0
36	"	20,8	108	420						

На основании наших опытов можно сделать определенное заключение о наличии в животном организме механизмов, обуславливающих спонтанное восстановление метгемоглобина. Но вместе с тем ясно, что организм далеко не всегда оказывается в состоянии бороться с метгемоглобинемией. И, если доза в 46 мгр. на килограмм веса является, в описанных нами опытах, сублетальной - из 10 животных погибло 3 через 1 ч. 20 - 1 ч. 15 минут после введения нитрита натрия, то уже доза в 50 мгр. на кил. веса является абсолютно летальной и животные погибали, как правило, к 30-й минуте (Дмитриева).

Следовательно, в этих случаях требуется присутствие определенных веществ, способных восстанавливать метгемоглобин в гемоглобин.

Таким образом вопрос борьбы с метгемоглобинемией путем введения в кровь веществ, способных усиливать и облегчать процесс спонтанного восстановления метгемоглобина приобретает определенный практический смысл и имеет теоретическое значение для понимания сущности биологического восстановления метгемоглобина.

Как известно из работ Вербурга (55), Вендела (46), Шапота (57), Васильевой (65) и др. такими веществами считаются глюкоза и молочная кислота, поэтому в наших дальнейших опытах мы и остановились прежде всего на изучении восстановительной способности этих веществ.

Глава 17-я.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ГЛЮКОЗЫ, КАК ВОССТАВЛЯТЕЛЯ ИНТЕРМОГЛОВИНА *in vivo*.

Известно, что введение глюкозы в организм вызы-
вает общее повышение жизненных процессов, улучшение
состояния и деятельности сердца и системы кровообра-
щения вообще.

В последнее время глюкоза нашла себе широкое при-
менение в терапевтической практике, особенно для целой
группы заболеваний.

По мысли В.А.Скворцова при внутривенном введении
гипертонических растворов глюкозы (20-40% и количе-
стве от 100 до 300 см³, мы имеем³ мощный метод воздей-
ствия на дитонические процессы в организме как в см-
оле каталитических окислительных процессов, так и в от-
ношении функциональных под³емов теснейшим образом, не-
разрывно друг с другом связанными.

Введение глюкозы изменяет дыхательный коэффициент,
увеличивает активность ферментов, повышает функцию ды-
хания, кровообращения, увеличивает работоспособность
особенно мышц сердца, восстанавливает ослабленную или
нарушенную реактивность, а также создает в растворе
высокий редокс-потенциал. Несмотря на то, что действие
глюкозы не всегда специфично, ценность ее очень высока.
И это особенно важно - что глюкоза представляет собой

вещество, принимающее деятельное участие в нормальном обмене веществ.

При введении гипертонических растворов глюкозы как дополнительный фактор используется повышение осмотического давления крови в результате отнятия ею воды от коллоидов тканей, что создает возможность для удаления почками адсорбированных клетками и тканями токсических веществ. Все это заставляет считать глюкозу весьма важным средством для борьбы организма с интоксикациями.

Противотоксическое действие глюкозы многократно подтверждалось экспериментально и на практике. Всюду, где необходимо снизить или устранить токсические проявления экзогенного или эндогенного происхождения, глюкоза дает в той или иной степени положительный эффект.

Показательно в этом отношении, что, например, Васильевой (65) рекомендуется применение глюкозы в случаях отравления организма следующими веществами: ртутью, свинцом, мышьяком, анилиновыми красителями, фосфором, нитритом натрия, цианистыми соединениями и др., а также при инфекционных болезнях - тифе, дизентерии, кори и т.п.. Кроме того, явное антитоксическое действие (особенно при повторном введении) оказывает глюкоза и при отравлении соевым маслом, наркотиками жирного ряда, морфином, стрихнином.

Отмечая способность глюкозы восстанавливать нарушенный обмен и нарушенную функцию клеток, Сквор-

цов (75) указывает, что "глюкоза — синергист восстановительных веществ".

Поскольку восстановление метгемоглобина в гемоглобин должно проходить за счет редуцирующих веществ организма, среди которых имеется глюкоза, и так как этот процесс находится в зависимости от интенсивности окислительно-восстановительных реакций у данного вида животных, то в работах Варбурга и Брукса (Brooks'a) мы должны обратить особое внимание на вопрос об участии глюкозы в восстановлении метгемоглобина, а также на ценность ее как терапевтического средства при метгемоглобинемии.

Сущность действия глюкозы, по мнению Брукса (56), который инъекцией глюкозы вызывал восстановление метгемоглобина в крови при экспериментальной метгемоглобинемии у кроликов заключалось в том, что глюкоза создает в растворе такой редокс-потенциал, который сам по себе уже способен вызвать восстановление метгемоглобинами.

Однако, это положение вызывает вполне справедливое возражение — в отсутствие эритроцитов глюкоза не восстанавливает чистый метгемоглобин в растворе. Так, в опытах (in vitro) Васильевой (65) образование метгемоглобина вызывалось прибавлением к крови синергистического железа и в этих условиях прибавление глюкозы не дает заметного изменения количества метгемоглобина. Она считает, что окисление глюкозы не-
для

обходимо наличие эритроцитов. Все это заставило нас подвергнуть этот вопрос экспериментальному изучению в опытах *in vivo* и *in vitro*. Опыты с глюкозой проводились при применении сублетальных и вдвое меньших доз нитрита натрия.

Глюкоза вводилась внутривенно в бедренную вену в количестве 0,5 г. на кгр. веса животного; при сублетальной дозе нитрита натрия - тотчас за введением, а при меньшей дозе - через четверть часа после введения нитрита натрия.

Опыты с сублетальными дозами оканчивались чаще всего гибелью животного через 30 минут после введения нитрита натрия; количество метгемоглобина при этом составляло около 70%.

Опыты даже с малой дозой нитрита натрия (0,023 г. на кгр. веса) показали, что, во первых, введение глюкозы не задерживает нарастания метгемоглобинемии и, во вторых, при сравнении скоростей восстановления метгемоглобина в этих опытах, с опытами его спонтанного восстановления нами не наблюдалось ускорения процесса восстановления. Увеличение дозы глюкозы до 2-х гр. на кгр. веса не изменило этих результатов.

На основании своих опытов мы можем сделать заключение, что искусственное повышение ее концентрации в крови *in vivo* не влияет на ускорение восстановления метгемоглобина. Данные этих опытов приведены в табл. № 7.

Чем же можно объяснить расхождение наших резуль-

Таблица № 7.

Восстановление метгемоглобина в артериальной крови после введения глюкозы.

№ опыта	Кол-во нитрита натрия в гр. на кгр/в.	Введение глюкозы		Метгемоглобин в % к общему гемоглобину						Примечание.
		Гр. на кг/в.	Время введен.	Время после введения.						
				15'	17'	30'	45'	60'	180'	
1.	0,046	0,5	Тотчас после введен.	-	-	70,5				Смерть
2.	0,023	0,5	Через 15	-	42	-	46,3	43,9	31,7	
3.	0,023	0,5	Через 15	36,8	39,1		40,2	33,5	7,2	
4.	0,023	2	Через 15	30,5	44,1		40,9	33,0	18,2	

татов с результатами, полученными вышеупомянутыми авторами?

Мы позволим себе высказать по этому поводу несколько общих замечаний. Как нами указывалось выше, образование метгемоглобина стоит в зависимости от концентрации и длительности воздействия ядов, температуры, состояния эритроцитов, а также вида животного. На значение последнего фактора, мы позволим себе обратить особое внимание.

Дыхательные пигменты крови различных видов животных имеют то общее, что их молекула может быть разделена на две части: на активную или простетическую и белковую. Гемоглобин всех видов животных, имеющих таковой, имеет общий гем, глобин, видовые же различия обуславливаются различиями в природе глобина. Известно, что свойства гемоглобина изменяются как в процессе филогенеза, так и в процессе онтогенеза.

Обращаясь к исследованиям, относящимся к вопросу влияния недостатка кислорода в онто- и филогенезе, можно отметить, что различные виды животных неодинаково относятся к недостатку кислорода. (Баркрофт (1), Сиротинин (66), Вайль (67), Пальгован Волобуев (68) и др. Например, беспозвоночные прекрасно переносят кислородное голодание, холоднокровные, сравнительно легко, но хуже чем беспозвоночные и т.д. То же наблюдается и в процессах онтогенетического развития. Теплокровные животные на более ранних стадиях разви-

тия легче переносят кислородное голодание. В старой и новой литературе имеются указания на большую выносливость раннего возраста к кислородному голоданию, в частности, к кислородному голоданию токсического происхождения (~~имеется в виду период новорожденности~~).

Экспериментальные данные (Карасик - 69) подтвердили это и показали вместе с тем, что в период роста происходит резкое снижение этой выносливости.

Естественно, что ^{при} воздействии ядов, нарушающих в той или иной степени дыхательную функцию крови, мы должны обратить особое внимание на видовые особенности животных, подвергающихся экспериментам. Например, при внутривенном введении кошкам и собакам бертолетовой соли в количестве 0,01 гр. у них появляется метгемоглобин. У кроликов при тех же условиях - почти не удается обнаружить метгемоглобина /Роберт - Robert (70) /. Красная кровяная соль ни *in vitro*, ни *in vivo*, в крови кроликов метгемоглобина не образует.

Крузе (Kruse) (61) отмечает, что при введении кроликам через рот ацетанилида в количестве от 0,3 до 0,5 гр на кг. веса метгемоглобинемия не наступает. Наоборот, у собак она наступает при дозе 0,1 - 0,3 на килограмм веса, поэтому опыты лучше производить на собак.

См. по этому вопросу работы Аршавского с сотрудниками, обнаружившими иные отношения у новорожденных детей.

Косяковым (24) была опубликована специальная работа по изучению метгемоглобинообразования у различных видов животных (кошки, собаки, кролики). При этом им было обнаружено, что собаки и кошки образуют метгемоглобин быстрее и в большем количестве, чем кролики. И с другой стороны обратное восстановление метгемоглобина в гемоглобин идет у кроликов значительно интенсивнее.

Косяковым (24) было высказано предположение, что на уровень метгемоглобина должно влиять содержание редуцирующих веществ в крови. Необходимо отметить, что содержание редуцирующих веществ вообще в норме у кроликов несколько выше, чем у кошек и собак (в среднем соответственно 109,8 мгр.%, 96,5 мгр.% и 89,8 мгр.%)[№]

Изучая эту зависимость он применил 25%-ный раствор глюкозы по 2 мг/кг. Повышая уровень редуцирующих веществ в крови до 170 - 220 мгр.% или понижая его (инъекцией инсулина) до 23-25 мгр.%, он наблюдал повышенное образование метгемоглобина при воздействии нитрита натрия при гипогликемии и понижение его образования при гипергликемии. Однако, как он же справедливо замечает - "Общее количество редуцирующих веществ в цельной крови еще не определяет динамики процесса редукции метгемоглобина".

Большое значение в процессе восстановления

метгемоглобина в гемоглобин Косьяков отводит гликолитической способности эритроцитов. Известно, что различные виды животных обладают неодинаковой гликолитической способностью. Например, эритроциты свиньи, практически, лишены ее. Гликолитическая способность эритроцитов человека - средней величины; эритроциты кролика обладают очень высокой гликолитической активностью (Колотилова и Ангельгардт (71)). Поэтому, возможно, что эритроциты кролика хорошо гликолизируют, они быстро восстанавливают образующийся метгемоглобин, в результате чего, кривая образования метгемоглобина у кроликов поднимается медленно, не доходит до высокого уровня и быстро опускается. При тех же условиях, кривая образования метгемоглобина в крови собаки будет подниматься быстрее, достигнет более высокого уровня и медленнее станет опускаться, так как в данном случае, по мнению Косьякова, "процессы оксиредукции сбалансированы на ином уровне".

Кроме того, можно предположить, что на процесс восстановления метгемоглобина оказывает влияние состояние окислительно-восстановительного потенциала крови. Работы Ойвина и Кавецкого (72) показали, что окислительно-восстановительный потенциал крови является новой физико-химической константой и отображает интенсивность окислительно-восстановительных процессов в организме.

Исследованию окислительно-восстановительного потенциала посвящены работы Ганке и Тутта (Ganke u. Tuta, Мейера (Meier), Некрасова (73) и многих других.

Ойвинни и Канецкии обнаружено, что минимальное значение E_h имеет место при отравлении цианистыми солями, вследствие резкого угнетения клеточно-окислительных процессов.

Максимум снижения совпадает с периодом угнетения и паралича дыхательного центра. Снижение величины E_h наблюдалось и при асфиксии.

Максимальное значение E_h имеет место под влиянием инсулина и при образовании в крови собак метгемоглобина. При ряде патологических состояний величина E_h крови отображает интенсивность окислительных процессов в организме. Несомненно, что изменения E_h связаны с нарушением клеточных окислительных процессов.

Интересно отметить, что и для величины окислительно-восстановительного потенциала (Ойвинни (5)) обнаружена та же видовая зависимость. Величина окислительно-восстановительного потенциала идет по восходящей кривой у следующих видов: собака ($E_h \approx 195$), кролик (214), морская свинка (216).

Глюкоза, как и цистеин-цистин, глутатион, витамин С, красящие вещества клеток крови, дыхатель-

ный фермент Варбурга и др. участвует в окислительно-восстановительных системах организма. Неудивительно, что исследованию ее действия при метгемоглобинемии было уделено значительное внимание и до самого последнего времени на восстанавливающие ее свойства возлагалась большая надежда.

Весь приводимый материал дает нам право сделать допущение, что расхождение результатов наших опытов с опытами Варбурга, Брукса, Шапота и друг. объясняется в значительной степени тем, что перенесенным авторам в качестве экспериментальных животных были выбраны кролики.

Что касается опытов Косякова на собаках, то, нам кажется, хороший эффект, наблюдавшийся им при введении глюкозы зависел от малой дозы применявшегося им нитрита натрия и в силу этого сравнительно небольшой степени метгемоглобинемии, а также, может быть и от того, что глюкоза вводилась предварительно, до введения метгемоглобинообразователя. Последний вводился уже на высоте гипергликемии (170 - 220 мг%).

Анализируя опыты Васильевой (63) (65), можно заметить следующее. В ее опытах глюкоза вводилась внутривенно в 30%-ном растворе на расчете от 0,5 до 1,5 и даже 2,6 гр/кг при внутривенном введении 0,014 г/кг нитрита натрия - через 30 минут метге-

←
К сожалению иные о генокоде, как о
терапевтическом средстве в борьбе с
метастазами ближайшей прогно удержива-
ется в практической медицине

гемоглобина оказалось 33,3%. Последующее введение глюкозы - 1,45 гр/кг привело к исчезновению метгемоглобина через 22 минуты.

Анализ результатов наших опытов при спонтанном восстановлении метгемоглобина
 Нужно обратить внимание на то, что через час после введения дозы нитрита натрия - 0,023 гр/кг, когда мы имели в среднем через час 30,3% метгемоглобина, то нет ничего удивительного, что при применении дозы 0,014 гр/кг. через час, методом Левровского, метгемоглобин не был обнаружен вовсе. Доза нитрита натрия 0,040 гр/кг. в опытах Васильевой приводила при внутривенном введении к смерти через 1 - 1½ ч.. В этих опытах доза нитрита натрия - 0,046 гр/кг. считалась только сублетальной.

Итак, наши опыты показали, что глюкоза не может быть использована как восстановитель нитрита при отравлении соляной кислотой и азотистой кислотой. Расхождение наших данных о результатах других исследований вполне объяснимо особенностями наших опытов, а именно: разницей в степени интоксикации, которая наблюдается в наших опытах и в опытах других авторов. Но получив в наших опытах положительных результатов от применения глюкозы, мы перешли к исследованию восстановительных свойств лактата натрия. ←
 При более подробном обследовании результатов наших опытов мы попытались дать и теоретическое объяснение этим расхождениям.

Глава V-я.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ЛАКТАТА КАЛЬЦИЯ И ЛАКТАТА НАТРИЯ, КАК ВОССТАНОВИТЕЛЕЙ ИТЕМИОГЛОБИНА IN VIVO

В предыдущих главах отмечалось значение изменений содержания глюкозы и молочной кислоты в крови при итемиоглобинемии. Молочная кислота наряду с глюкозой является постоянным ингредиентом крови, где ее находят при физиологических условиях от 8 до 15мг%. Наличие молочной кислоты в крови объясняется тем, что в мышцах, даже во время покоя постоянно образуется молочная кислота и часть ее поступает в кровь. Как метаболит углеводов, молочная кислота играет большую роль. Образованием молочной кислоты заканчивается анаэробная фаза гликолиза и аэробная фаза начинается ее частичным окислением; наряду с этим происходит расщепление неокислившихся молекул молочной кислоты в гликоген.

В отсутствии кислорода в тканях накапливается молочная кислота, которая в состоянии синтезировать эквивалентное количество углекислоты из бикарбонатов, что может повлечь за собой сдвиг кислотно-щелочного равновесия в организме.

В последнее время, в связи с появлением новой теории свертывания крови (Штубер и Ланг) молочной кислоте отводится новая очень важная роль. "Согласно

этой теории, ведущим моментом в процессе свертывания является образование молочной кислоты, под влиянием которой меняется изoeлектрическая точка растворенного фибриногена, в результате чего, последний выпадает в виде нитей фибрина. Взамен тромбокиназы, авторы этой теории выдвигают гликолитический фермент кровяных телец под влиянием которого при соответствующих механических раздражителях происходит распад сахара плазмы и образующаяся при этом молочная кислота быстро приводит к свертыванию крови (изменением состояния растворенного фибриногена, благодаря изменению изoeлектрической точки этого вещества" (Колотельни - 74).

По данным Скворцова (75) молочная кислота имеет большое значение в организме, ввиду благоприятного влияния ее на желудочную секрецию. Широко известны "антикетонные" ^{свойства} молочной кислоты, и другие.

Изменения в содержании молочной кислоты в крови, могут быть обусловлены или усиленным гликолизом, вследствие, например, недостаточности окисления по сравнению с нормой или накоплением молочной кислоты в тканях, в качестве недоокисленного продукта, вследствие той же причины. Особенно резкое повышение содержания молочной кислоты, при физиологическом состоянии вызывается напряженной мышечной работой. Естественно, что повышение количества мо-

лочной кислоты наблюдается при гипоксемии. Однако, мы считаем необходимым отметить тот факт, что при медленном внутривенном введении лактата натрия, едва удастся уловить повышение в содержании молочной кислоты в крови, настолько оно незначительно и кратковременно.

Прокс 3070. Данные опытов Венделя (43) и Шапота (57) показали, что молочная кислота при окислении в пировиноградную может служить субстратом для восстановления метгемоглобина.

Результаты этих опытов дают основание для предположения, что лактат в опытах *in vivo* является лучшим восстановителем метгемоглобина чем глюкоза и может служить эффективным средством против метгемоглобинемии. Поэтому представляло значительный интерес изучить влияние молочной кислоты на процесс восстановления метгемоглобина.

Наши опыты ставились на собаках *in vivo*. (Шапот и Вендель работали с кроликами, главным образом *in vitro* и только частично *in vivo*), и показали, что скорость восстановления метгемоглобина при введении различных, даже очень больших доз лактата натрия, практически не отличается от скорости спонтанного восстановления метгемоглобина без введения лактата. В том и другом случае, через час процент метгемоглобина достигал в отдель-

ных опытах величин одного и того же порядка, давая в среднем 58-60% метгемоглобина; через 6 часов в обоих случаях процент метгемоглобина также был один и тот же - 19 - 20%. (См. данные табл. № 1 и № 8).

Важно отметить, как показывает один из приведенных опытов таблицы № 9, что лактат при сублетальной дозе нитрита натрия не в состоянии предотвратить смерти животного.

Сопоставление этих трех опытов делает очевидным полное отсутствие какого либо влияния вводимого лактата на скорость восстановления метгемоглобина. Повидимому, здесь, как и в опытах с глюкозой, оказались те же причины, обусловившие расхождение наших данных с данными Варбург, А/ Шапота и др..

Ускорение восстановления метгемоглобина при прибавлении лактата в опытах Шапота имело место в суспензии многократно отмытых эритроцитов кролика. При этом из эритроцитов вымывалась полностью не только глюкоза, молочная кислота, но и другие органические субстраты, за счет которых могло бы происходить восстановление метгемоглобина.

Очевидно, что прибавление лактата к такой суспензии в состоянии было вызвать интенсивное восстановление метгемоглобина (то же самое можно сказать и относительно глюкозы).

Таблица № 8.

Восстановление метгемоглобина в артериальной крови после введения лактата натрия.

№ опыта	Нитрит натрия в гр. на кг.	Лактат натрия в гр. на кг.	Метгемоглобин в % к общему гемоглобину						Примечание.	
			Время после введения							
			15'	30'	1 ч.	2 ч.	3 ч.	6 ч.		
1.	0,046	0,08	-	-	64,7	-	-	-		
2.	"	0,1	-	62,9	58,1	-	32,2	21,9		
3.	"	0,1	44,0	-	55,6	-	13,1	-		
4.	"	0,2	55,6	-	52,6	-	25,4	16,8		
5.	"	0,5	71,4	77,4	С м е р т ь					
Средн.			57,0	70,1	57,75	-	23,57	19,25		

Т а б л и ц а № 9.

Сравнение скорости восстановления метгемоглобина в опыте на одной и той же собаке: спонтанного и после введения разных концентраций лактата.

Дата опыта 1940г.	Кол-во нитрита натрия в гр. на кгр/в.	Кол-во лактата на гр. на кгр/в.	Метгемоглобин в % к общему гемоглобину					
			Время после введения					
			15'	30'	1 ч.	2 ч.	3 ч.	5 ч.
30/IX	0,046	-	-	47,1	56,7	38,0	27,1	12,2
15/IV	0,046	0,1	-	62,9	58,1	-	32,2	21,9
24/X	0,046	0,5	71,1	77,4	С м е р т ь			

Этим объясняется тот факт, что Шапот отрицает, на основании именно этих своих опытов факт спонтанного восстановления метгемоглобина в гемоглобин в крови.

Как уже неоднократно упоминалось, опыты других авторов и наши собственные утверждают факт спонтанного восстановления метгемоглобина как *in vivo*. Так и *in vitro* (более подробно о наших опытах *in vitro* см. ниже).

Опыты Шапота *in vivo* (были немногочисленны (9 опытов) и проведены были на кроликах. Характерно, что неоднократно (в 3-х случаях из 9-ти), в его опытах при введении кроликам нитрита натрия 0,08 - 0,09 г/кг, несмотря на очень большие дозы его, немисливные для собак, метгемоглобин вообще не обнаруживался, т.е. метгемоглобинообразование отсутствовало.

Последнее подтверждает наше предположение о том, какое большое значение в вопросе метгемоглобинообразования у животных имеют видовые особенности.

Таким образом результаты этой серии опытов показывают, что *in vivo* при сублетальной дозе у собак 46 мг. на кг. веса лактат восстанавливающего действия не оказывает. Чаще всего животные погибали в момент наибольшего количества метгемоглобина в крови между 30-40 минутами после

введения нитрита натрия.

При дозе в 36 мгр. на клгр. веса, собаки все-
гда выживали, несмотря на очень тяжелое состояние.
Применение лактата в данном случае не показало от-
четливого улучшения в состоянии собаки и, главное,
в скорости восстановления метгемоглобина.

Отрицательные результаты, которые мы получили
в этих опытах, собственно следовало ожидать, исхо-
дя уже из теоретических соображений. Можно усом-
ниться в том, что искусственное повышение концен-
трации лактата в крови обязательно должно повести
к ускорению восстановления метгемоглобина. Вполне
понятно, что ускорение восстановления метгемогло-
бина может идти за счет ферментативного дегидри-
рования лактата. Но несмотря на то, что фермент и
субстрат реагируют между собой в некоторых опре-
деленных отношениях, ферментативный процесс не
всегда носит характера мономолекулярной реакции,
т.е. скорость его зависит от концентрации субстра-
та только до известного предела. Известно, напри-
мер, что скорость образования эфира возрастает с
повышением концентрации кислоты. Однако, за из-
вестным пределом создается такая кислотность, ко-
торая неактивирует ферменты. Повышение concentra-
ции алкоголя увеличивает скорость реакции лишь
до 1 - 2 молярной его концентрации. Дальнейшее

повышение концентрации алкоголя, довольно сильно снижает скорость реакции. В условиях живого организма лактат, наряду с другими веществами всегда имеется в крови и если принять во внимание, что при явлениях метгемоглобинемии мы наблюдаем без того резкую гиперлактацидемию, то это невольно наводит на мысль, что при дополнительном введении лактата извне, ни встречаемая с явлением такого характера, когда искусственное повышение концентрации молочной кислоты, в лучшем случае бесполезно.

Как известно, другим фактором, определяющим скорость ферментативной реакции является концентрация фермента или какого нибудь катализатора, активирующего данную ферментную систему. Такого рода активаторами могут служить вещества, которые в состоянии играть роль промежуточных переносчиков водорода (кодегидразы).

Коферменты вообще играют роль пространственных переносчиков, в буквальном смысле слова, транспортеров тех или иных остатков или радикалов. Ответственно, что такой переносчик будет играть существенную роль в повышении скорости биологического катализа и может в зависимости от условий способствовать строго избирательному направлению переноса водорода от определенных донаторов к определенным ак-

цепторам. Свойства Подобного рода были, прежде всего, обнаружены в опытах ~~по изучению~~ ^{свойствами} ~~в опытах~~ ^{обнаружены} ~~на~~ ^в ~~опытах~~ ^{на} ~~у~~ ^у ~~ряда~~ ^{ряда} ~~органических~~ ^{органических} ~~красителей~~ ^{красителей}.
обнаружены у ряда органических красителей.

Т а б л и ц а № 10

Содержание молочной кислоты в крови при восстановлении метгемоглобина лактатом натрия.

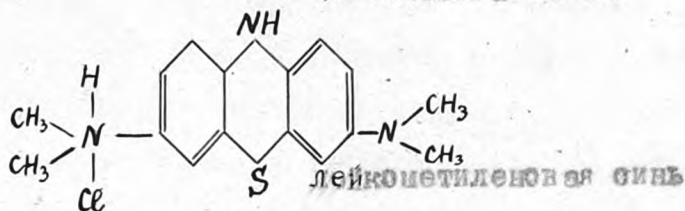
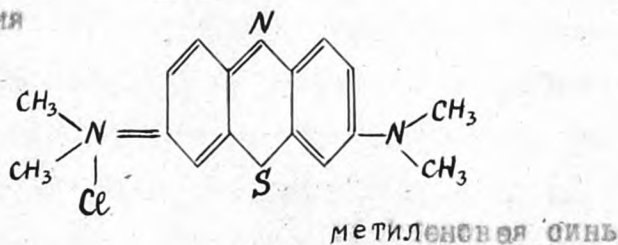
№ опыта	Нитрит натрия в гр. на кгр/в.	Лактат в гр. на кг/в.	Содержание молоч.к-ты до введен. нитрита натрия в мг%	Содержание молочной кислоты после введения нитрита натрия и лактата					
				15'	30'	1 ч.	2 ч.	3 ч.	6 ч.
				мг%	мг%	мг%	мг%	мг%	мг%
22	0,046	0,08	23,3	-	-	112,2	-	51,5	-
23	"	0,1	18,0	-	81,5	123,3	-	47,7	20,5
24	"	0,1	25,3	49,2	-	64,8	-	36,7	-
25	"	0,2	21,3	68,8	-	56,3	114,0	39,8	10,1
31	"	0,5	13,3	74,3	188				

Исходя из только что изложенных соображений о причинах отрицательного результата с лактатом, мы решили испытать одно из таких веществ, а именно метиленовую синь в качестве восстановителя метгемоглобина, хотя это и противоречило общему представлению о ней, как о метгемоглобинообразователе.

Глава 11-я.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТИЛЕНОВОЙ СИНИ, КАК ВОССТАНОВИТЕЛЯ МЕТЕМОГЛОБИНА.

Метиленовая синь (Methylenblau, Methyleum, ceruleum) тетраметил-тионин относится к группе тиазиновых красителей ($C_{16}H_{18}N_2S$) имеет следующую форму строения



и обладает характерной способностью обесцвечиваться при гидрировании и приобретать окраску при окислении.

Метиленовая синь - краска, представляющая значительный интерес как для экспериментальной, так и для клинической медицины широко применяется в клинике для диагностических и терапевтических целей (Дозировка внутрь 0,1 - 0,2 про доз : 0,3 - 0,5 про аie и внутривенно 0,05 мг в 1% растворе). Применялась раньше при невралгиях, невритах, мигрени, ревматизме и т.д. В последнее время метиленовая синь употреблялась глав-

нии образом при лечении малярии, а также дизентерии, гельминтозах и т.д.

Наибольшую известность в биохимии метиленовая синь приобрела со времени исследования Туберга, за свою способность служить в качестве акцептора и донатора водорода.

Как известно, функция дыхания присуща всем клеткам, за очень немногим исключением. К исключениям такого рода относятся эритроциты взрослых млекопитающих, которые не потребляют кислорода или потребляют лишь ничтожное количество его, оставаясь функционально полноценными при продолжительном пребывании в среде, полностью лишенной кислорода. И безъядерные эритроциты нормальных взрослых млекопитающих потребляют меньше кислорода, чем ядерные эритроциты взрослых нормальных птиц. При увеличении количества эритроцитов в крови, что наблюдается при различных формах анемии, потребление кислорода сильно возрастает (Вербург - 76). Но дыхание не является тем единственным механизмом посредством которого освобождается необходимая для жизнедеятельности клетки энергия. Наряду с окислительными процессами в энергетическом обмене живой клетки большую роль играет процесс анаэробного расщепления сахара. Этот процесс имеет особое значение для клеток с пониженной окислительной способностью, и именно для эритроцитов.

Изучая значение анаэробного расщепления сахара

наряду с окислительными процессами в энергетическом обмене живой клетки, в особенности для эритроцитов.

Гаррон и Баррон (53) в 1928 г. и Энгельгард (54) в 1930 г. нашли, что метиленовая синь в присутствии глюкозы повышает интенсивность дыхания безъядерных эритроцитов млекопитающих, не оказывая при этом почти никакого влияния на дыхание ядерных эритроцитов птиц. Гаррон и Баррон предположили, что метиленовая синь играет роль переносчика кислорода, заменяя какое-то вещество, исчезнувшее у зрелых безъядерных эритроцитов и восстанавливая активность последних до степени, свойственной молодым, незрелым формам и ядерным эритроцитам птиц.

Метиленовая синь, по их мнению, доводит до конца окисление промежуточных продуктов, которые образуются в результате анаэробного расщепления сахара. Это мнение они сами же подтвердили найдя зависимость между интенсивностью гликолитического процесса и степенью влияния метиленовой сини на дыхание. Это же подтверждается также и тем, что у эритроцитов различных млекопитающих эффект от прибавления метиленовой сини пропорционален их гликолитической способности (Барбург, Кубович и Христиан (55), Энгельгардт и Любимова (77)).

Наряду с этим последними авторами допускается, что метиленовая синь окисляет не только продукты гликолитического распада, но благодаря ей может подвергаться распаду и сама шестуглеродная молекула углевода.

На основании своих опытов, Баррон, Гаррон и Энгельгардт делают заключение, что окислению метиленовой сини подвергается только та часть энергетического субстрата, которая в обычных условиях подвергается анаэробному распаду и допускают, что наряду с окислением, происходящим за счет метиленовой сини, в клетке продолжает протекать нормальный окислительный процесс.

Разность между дыханием — потреблением кислорода, в присутствии метиленовой сини и нормальным дыханием, может до известной степени отражать интенсивность гликолитического процесса. У ядерных эритроцитов метиленовая синь не вызывает усиления поглощения кислорода, т.е. не повышает интенсивности дыхания, так как и без метиленовой сини деосмолитический процесс идет по аэробному пути.

У эритроцитов млекопитающих система "переносчик-дыхательный фермент" слабо развита, метиленовая синь, заменив ее в этом случае сдвигает распад сахара в сторону окисления, чем и обуславливает более энергичное дыхание.

Очень интересна в этом отношении работа Лейб-

сон (78) в которой ею изучалось влияние метиленовой сини на дыхание эритроцитов развивающегося организма и в которой она приходит к заключению, что влияние метиленовой сини оказывается на эритроцитах эмбриона кролика в значительно меньшей степени, чем на эритроцитах взрослого животного, так как у эмбрионов кролика и без того тип обмена близок к аэробному.

Таким образом, само собой напрашивается вывод, сделанный автором, что тип обмена эритроцитов эмбрионов, сходен с обменом молодых форм эритроцитов - ретикулоцитов эмбрионической крови взрослого кролика.

Метиленовая синь оказывает свое большее влияние в тех случаях, где мы имеем более развитую структуру для осуществления дыхательной функции крови (безъядерные эритроциты) с одной стороны и у взрослых форм животных, по сравнению с эмбриональными формами, с другой.

По Дейчу (79) при явлениях угнетения клеточного дыхания метиленовая синь может возмещать функцию дыхательного фермента, осуществляя вместе с включаемым глутатионом, и функцию добавочного дыхания. Расчет здесь ведется на способность метиленовой сини присоединять водород и тем способствовать окислению.

В настоящее время мы располагаем в русской литературе рядом работ, в которых метиленовая синь входя в состав так называемого хромогена (на 100 см³ воды 10,0 глюкозы и 0,25 метиленовой сини или, что чаще 20,0 глюкозы и 1,0 метиленовой сини на 100,0)

с успехом применяется для терапевтического воздействия при различных отравлениях.

Более подробно на рассмотрении работ, посвященных хромоному мы остановимся несколько ниже.

Интересно отметить, что по данным Бессарабовой (80) метиленовая синь восстанавливает гликолиз крови, угнетенный фторидом натрия и по данным Казанцевой (81) метиленовая синь восстанавливает исчезнувшее под влиянием флюоридов митогенетическое излучение. Кун (Kuhn-82) рекомендует внутривенное введение метиленовой сини как средство для предупреждения метгемоглобинемии при лечении сульфаниламидом. Для нас наиболее интересным является то, что Гаушильд (Gauschila-83) в опытах с экспериментальной метгемоглобинемией на животных, впервые обнаружил, способность метиленовой сини предотвращать гибель животного.

Исходя из широко распространенного взгляда на метиленовую синь, как метгемоглобинообразователь Гаушильд искал объяснение своим опытам в том, что метиленовая синь в данном случае берет на себя функцию гемоглобина, как переносчика кислорода на время, пока метгемоглобин спонтанно не восстановится в гемоглобин. Но, уже в следующем своем небольшом сообщении Э. Гаушильд (84) отказывается от такого объяснения и обобщая результаты своих опытов предписывает метиленовой сини роль восстановителя метгемоглобина.

Более обстоятельно восстанавливающие свойства

метиленовой сини были изучены Ренделем (85).

Таким образом, начиная с 1939 г., вопреки существующему общему представлению о метиленовой сини как о метгемоглобинообразователе, появляются в иностранной литературе отдельные работы, в которых метиленовая синь выступает в качестве восстановителя метгемоглобина.

Наши исследования с применением метиленовой сини при метгемоглобинемии проводились в течение 1940 г. и первой половины 1941 года.

Метиленовую синь мы применяли внутривенно в водном растворе в количестве 0,5 мг. или 5 мг. на килограмм веса. Опыты разделялись на несколько серий:

Серия 1. Введение метиленовой сини после введения нитрита натрия.

Оказалось, что введение метиленовой сини, предотвращает, в значительной степени, образование метгемоглобина. При введении даже малой дозы метиленовой сини, уже через 15' содержание метгемоглобина делается почти в 2 раза меньшим, чем при спонтанном восстановлении, а также при употреблении лактата через час, после введения его и нитрита натрия. Через час же, вместо обычных 60-57% метгемоглобина, мы имели, при введении 5 мг. метиленовой сини на кг. веса практически полное восстановление его. Через 6 часов, вместо 20 - 19% в опытах с лактатом и со

спонтанным восстановлением, при введении как большой, так и малой дозы метиленовой сини, также наступало полное восстановление образовавшегося метгемоглобина (Табл. 11).

Мы имели возможность неоднократно убедиться, что даже в случае резкой формы метгемоглобинемии (выше 70% метгемоглобина) в агональном состоянии, животное может быть спасено внутривенным введением метиленовой сини, о чем свидетельствует один из приводимых нами опытов (Табл. № 12).

В дальнейшем мы детализировали эти опыты и внесли некоторые изменения в порядок проведения их, а именно: прежде всего после проведения соответствующей операции у животного производилось ~~взятие~~ взятие крови для определения процента гемоглобина (норма), затем вводился нитрит натрия и тотчас производилось взятие крови для определения % метгемоглобина, (появление которого мы во всех случаях уже непременно обнаруживали). После этого немедленно вводилась метиленовая синь и тотчас же производилось взятие крови для анализа. Последние 4 манипуляции производились быстро одна за другой в пределах 1-й минуты. Этому способствовал метод забора крови простым снятием зажима с артерии.

В дальнейшем кровь для исследования количества метгемоглобина бралась спустя 7, 15, 30 и 60 мин. т.

Развития метгемоглобинемии в этих случаях не

Т а б л и ц а № 11.

Восстановление метгемоглобина в артериальной крови после введения метиленовой сини.

№ опыта	Кол-во нитрита натрия в гр. на кг/в.	Кол-во мет.сини в мг на кг/в	Метгемоглобин в % к общему гемоглобину					
			Время после введения метиленовой сини					
			15'	30'	1 ч.	2 ч.	3 ч.	6 ч.
1.	0,046	0,5	34,0	30,9	20,8	-	9,7	9,2
2.	"	0,5	31,0	31,0	17,5	-	-	-
3.	"	5	-	19,3	1,4	5,2	6,2	0,3
4.	"	5	-	19,0	12,9	2,5	2,5	-

Т а б л и ц а № 12.

Устранение тяжелой формы метгемоглобинемии метиленовой синькой.

№ опыт	Кол-во нитрита натрия в гр. на кгр/в.	Метгемоглоб. в % к общему гемоглобину через 30' по- сле введения нитрита на - трия.	Введение метилен. сини в мг. на кгр/в.	Метгемоглобин в % к общему гемоглобину			
				Время после введения метилено- вой сини			
				30'	1ч.30'	2ч.30'	5ч.30'
1.	0,046	74,6	5	27,4	7,1	8,0	8,3

поступало. Уже через 7 минут мы наблюдали резкое падение появившегося, в первый момент после введения нитрита натрия метгемоглобина, а через 60 минут, как правило, происходило полное восстановление ^{первоначального} количества гемоглобина.

Таким образом первая серия опытов показала, что введение метиленовой сини введённой за нитритом натрия не допускает развития метгемоглобина.

Серия 2-я. Метиленовая синь в этой серии опытов вводилась спустя час после введения нитрита натрия на фоне незначительной метгемоглобинемии. Порядок опытов был следующий:

Производилось взятие крови для определения процента гемоглобина (норма), затем следовало введение нитрита натрия и спустя 30 или 40 минут происходило взятие крови для определения процента метгемоглобина. Тотчас за взятием крови вводилась метиленовая синь и тут же немедленно снова забиралась кровь для определения метгемоглобина (все манипуляции занимали время от 30 до 45 секунд).

Дальнейшее взятие крови для анализа производилось через 7, 15 и 30 минут.

Во всех параллельных опытах этой серии, мы наблюдали одну и ту же картину. Немедленно после введения метиленовой сини начиналось падение количества метгемоглобина и не редко к 30-й минуте, а чаще всего к 60-й минуте метгемоглобин полностью восстанавливался. Тотчас же, что параллельно этому и все явления метгемоглобинемии. (Табл. № 13)

Т а б л и ц а № 13.

Введение метиленовой сини 5 мг. на кг/в. через час после введения нитрита натрия 0,036 кг. на килограмм веса собаки.

№ опыта	Кол-во мет-гемоглобина через 1 ч. после введения нитрита натрия.	Количество метгемоглобина в % к общему гемоглобину после введения метиленовой сини.				
		Тотчас	Через 7'	Через 15'	Через 30'	Через 60'
1.	65,7	62,0	48,6	41,4	23,5	12,6
2.	50,1	48,3	35,0	32,0	2,5	0,5
3.	56,4	54,4	28,4	18,1	11,7	10,6
4.	54,5	49,0	-	24,2	0	0

Серия 3. Опыты с глюкозой и метиленовой синью.

Как нами было обнаружено (см. гл. II) введение одной глюкозы вслед за нитритом натрия не предотвращает появления метгемоглобинемии. Исходя из этих соображений мы поставили специальную серию опытов в которых вводили метиленовую синь животным, находившимся в состоянии тяжелой метгемоглобинемии, несмотря на то, что им одновременно была введена глюкоза. В преобладающем большинстве случаев мы имели выживание животного. Летальный исход наступал только в тех случаях, когда мы затягивали момент введения метиленовой сини до полной остановки дыхания.

Порядок опытов был следующий. Производилось взятие крови для определения процента гемоглобина, затем следовало введение нитрита натрия и тотчас введение глюкозы. Затем немедленно бралась кровь для определения количества метгемоглобина, а в дальнейшем кровь бралась через 7, 15 и т.д. минут.

В наиболее тяжелый момент агонии вводилась метиленовая синь и тотчас же бралась кровь для определения процента метгемоглобина, а в дальнейшем через 7, 15 и т.д. минут.

Таким образом опыты этой серии показали, что введение глюкозы бессильно остановить развитие последствий тяжелой метгемоглобинемии и только введение метиленовой сини способно спасти животное от гибели.

Серия 4. Опыты о одновременном введении лактата и метиленовой сини.

Являлась все же мысль, что лактат при одновременном введении с метиленовой синью, т.е. в комбинации катализатора с предполагаемым субстратом восстановления метгемоглобина, повысит восстанавливающий эффект метиленовой сини.

С этой целью были проведены соответствующие опыты введения волею за нитритом натрия лактата и метиленовой сини.

Для осуществления строгого сравнения, опыты проводились на одном и том же животном.

Сравнивались скорости восстановления метгемоглобина: спонтанного, после введения лактата, метиленовой сини, а также лактата и метиленовой сини одновременно.

В некоторых случаях, по чисто техническим причинам, удалось поставить на одном и том же животном только три из четырех вариаций.

Результаты некоторых из этих опытов приведены в таблицах № № 14, 15, 16, 17.

Таким образом результаты этих опытов, во первых, еще раз подтверждают факт спонтанного восстановления метгемоглобина *in vivo* и, во вторых, подчеркивают отсутствие какой либо значительной разницы между спонтанным восстановлением и восстановлением при применении лактата и, в третьих, подтверждается еще раз факт

успешного действия метиленовой сини, как восстановителя метгемоглобина. И, кроме того, все опыты этой серии показали, что комбинированное действие лактата и метиленовой сини не повышает восстанавливающей способности метиленовой сини.

При спонтанном восстановлении к концу 1-го часа мы имели от 50 до 68% метгемоглобина, а к концу 6-го часа процент метгемоглобина был несколько выше 20. При применении лактата к концу 1-го часа имели 52,6; 55,6; 67,7% метгемоглобина; к концу 6-го часа 16,8% метгемоглобина для случая в 52,6% метгемоглобина к концу 1-го часа, что говорит вообще о сравнительно невысокой степени метгемоглобинемии. Применяя метиленовую синь мы имели к концу 1-го часа 20,8%; 1,4%; 17,5% и 12,9% метгемоглобина, к концу 6-го часа максимальный процент метгемоглобина равнялся 9,2%, а в большинстве случаев метгемоглобин не обнаруживался вовсе.

И, наконец, при комбинированном воздействии лактата и метиленовой сини - имели к концу 1-го часа 32,1%; 8 %; 42,7%; к концу 6-го часа - от 10,4% до 1,3%. В последнем случае обращаем внимание на то, что к концу 1-го часа здесь имела место довольно высокая степень метгемоглобинемии.

Конечно ~~было бы~~ на основании этого полагать, что лактат не является субстратом за счет дегидрирования которого производится метиленовой синью восстановление

Т а б л и ц а № 14 .

Сравнение в опыте на одном и том же животном скоростей восстановления метгемоглобина: спонтанного, лактата, метиленовой сини и метиленовой сини с лактатом одновременно.

Дата опыта	Кол-во нитрита натрия в гр. на кгр./в.	Кол-во лакта- та в гр. на кгр./в.	Кол-во мет.с. в мгр. на кгр./в.	Метгемоглобин в % к общему гемоглобину					
				Время после введения нитрита и восстановителя					
				15'	30'	1 ч.	2 ч.	3 ч.	6 ч.
4/V1	0,046	-	-	-	-	50,0	-	31,8	20,5
25/IX	0,046	0,2	-	55,6	-	52,6	-	25,4	16,8
28/X	0,046	0,2	0,3	48,1	33,6	32,1	18,8	12,8	10,4
18/X	0,046	-	0,5	34,0	30,9	20,8	-	9,7	9,2

Т а б л и ц а № 15.

Сравнение в опыте на одном и том же животном скорости восстановления метгемоглобина: одним лактатом и метиленовой синью и лактатом одновременно.

Дата опыта	Кол-во нитрита натрия в гр. на кгр/в.	Кол-во лактата в гр. на кгр/в.	Кол-во м.с. в мг. на кгр/в.	Метгемоглобин в % к общему гемоглобину					
				Время после введения нитрита натрия и восста- новителя					
				15'	30'	1 ч.	2 ч.	3 ч.	6 ч.
19/1	0,046	0,1	-	44,0	-	55,6	-	13,1	-
12/X	0,046	0,2	5,0	29,3	18,7	-	5,1	7,9	-
4/X1	0,046	0,5	5,0	31,7	16,0	8,0	-	3,0	-

Т а б л и ц а № 16.

Сравнение в опыте на одном и том же животном скоростей восстановления
метгемоглобина: спонтанного, лактатом и метиленовой синью.

Дата опыта 1940г.	Кол-во нитрита натрия в гр. на кгг./в.	Кол-во лактата в гр. на кгг./в.	Кол-во м.б. на кгг./в.	Метгемоглобин в % к общему гемоглобину					
				Время после введения нитрита натрия и восстановителя					
				15'	30'	1 ч.	2 ч.	3 ч.	6 ч.
1/VI	0,046	-	-	-	-	68,0	-	49,7	20,7
21/VI	0,046	0,08	-	-	-	64,7	-	-	-
4/X	0,046	-	5,0	-	19,3	1,4	5,2	6,2	0,3

Т а б л и ц а № 17.

Сравнение в опыте на одном и том же животном скоростей восстановления метгемоглобина: метиленовой синью и лактатом одновременно и одной метиленовой синью.

Дата опыта 1940г.	Кол-во нитрита натрия в гр. на кгр/в	Кол-во лактата в гр. на кгр/в	Кол-во м.о. в мгр. на кгр/в	Метгемоглобин в % к общему гемоглобину					
				Время после введения нитрита натрия и восста- новителя					
				15'	30'	1 ч.	2 ч.	3 ч.	6 ч.
31/X	0,046	0,5	0,5	41,8	49,1	42,7	29,1	20,9	1,3
2/XII	0,046	0,5	0,5	31,0	31,0	17,5	-	-	-
11/X	0,046	0,5	5,0	-	19,0	12,9	2,5	2,5	-

метгемоглобина

Такого вывода нам кажется,

какой вывод был бы полезен, так как он ~~ни~~ теорети-
~~ни практически не~~чески ~~недостаточно~~ обоснован, ибо количественное со-
отношение между субстратом и катализатором в фер-
ментативных процессах не является столь простым.

Остается также открытым вопрос - осуществляет ли метиленовая синь дегидрирование молочной кислоты или других органических субстратов непосредственно, или между ней и субстратом имеется посредник, например, сульфгидрильные соединения.

Проводимые одновременно исследования количества молочной кислоты в крови, при применении метиленовой сини в качестве восстановителя метгемоглобина, показали, что концентрация молочной кислоты, повышается только в течение первого часа - это при введении 0,5 мгр., а при введении же 5 мгр. на килограмм веса, только в течение первых 30 минут и в значительно меньшей степени, чем в опытах с одним нитритом натрия (см. табл. № 18). В дальнейшем идет сильное уменьшение молочной кислоты в крови.

Что касается содержания сахара, то количество его в крови при введении метиленовой сини не дает той степени увеличения, которая имелаась при введении одного нитрита натрия (табл. № 19).

Все это свидетельствует о том, что метиленовая синь, повидимому, стимулирует гликолитический про-

Т а б л и ц а № 18.

Содержание молочной кислоты в крови до и после введения нитрита натрия и метиле-
новой сини.

№ опыта	Колич. нитрита натрия в гр. на кгр/в.	Колич. метил. сини в мгр. на кгр/в	До введе- ния	После введения нитрита натрия					
				15'	30'	1 час	2 ч.	3 ч.	6 ч.
				мгр%	мгр%	мгр%	мгр%	мгр%	мгр%
	0,046	6,0	23,8	-	42,0	22,9	15,7	11,7	16,9
	0,046	5,0	27,7	-	30,6	23,2	22,7	22,1	-
	0,046	0,5	33,3	38,9	61,9	47,2	29,0	24,1	18,0
	0,046	0,5	51,3	94,3	89,5	78,4	33,7	26,5	22,9

Т а б л и ц а № 19.

Содержание сахара в крови до и после введения нитрита натрия и метиленовой сини.

№ опыта	Кол-во нитрита натрия в гр. на 1 гр. в.	Кол-во метил. сини в 1 гр. на 1 гр. в.	До введе- ния мг%	Содержание сахара после введения нитрита натрия и метиленовой сини через					
				15'	30'	1 час	2 час.	3 часа	6 час.
				мг%	мг%	мг%	мг%	мг%	мг%
	0,046	5,0	92	-	110	97	73	69	68
"	"	5,0	88	-	141	136	96	55	"
"	"	0,5	82	101	118	105	90	61	72
"	"	0,5	106	143	145	116	126	124	191

цесс и вызывает усиление окисления молочной кислоты за счет которой, вероятно, и идет восстановление метгемоглобина.

Для окончательного решения этого вопроса необходимы дальнейшие исследования.

Пока прием, как наиболее вероятное, что субстратом восстановления является молочная кислота, что она гидрирует метиленовую синь, превращая ее в лейко форму, а сама окисляется в пировиноградную кислоту. Тогда схема восстановления метгемоглобина примет следующий вид:

1. Метиленовая синь + молочная кислота $\rightleftharpoons$ лейко-метиленовая синь + пировиноградная кислота.
2. Лейко-метиленовая синь + метгемоглобин $\rightleftharpoons$ гемоглобин + метиленовая синь.

Процесс восстановления и окисления метиленовой сини непрерывно повторяется и небольшое количество ее восстанавливает значительное количество метгемоглобина.

Нетрудно видеть, что эта схема диаметрально противоположна схеме Вербурга (см. стр. 33.). По Вербургу метиленовая синь не восстанавливает метгемоглобина, а образует его сама восстанавливаясь в лейко форму.

(см. схему Шапона)

Глюкоза, или точнее, молочная кислота окисляется

не метиленовой синью, а метгемоглобином.

По Варбургу сущность действия метиленовой сини состоит в том, что ~~она~~ ^{предположительно на основании} ~~образует~~ метгемоглобин, по нашей же схеме, ~~вытекающей из факта~~ ^{экспериментальных данных} ~~какого-либо исследования~~, сущность действия метиленовой сини в опытах ^{на фоне развита метгемоглобинемия} ~~in vivo~~ заключается в том, что она все время восстанавливает метгемоглобин.

По нашей схеме лейко-метиленовая синь окисляется метгемоглобином, восстанавливая его; по Варбургу лейко-метиленовая синь окисляется кислородом, значит этот процесс является аэробным; по нашей же схеме - анаэробным.

В этом и заключается все видимое противоречие между данными Варбурга о метгемоглобинообразующем действии метиленовой сини и фактическим восстанавливающим ее эффектом.

Сущность, конечно, заключается в следующем: Варбург ставил свои опыты *in vitro* в присутствии кислорода, а *in vivo* - очевидно, процесс восстановления метгемоглобина метиленовой синью течет анаэробно. Это находит себе подтверждение в том, что метиленовая синь, прибавленная к метгемоглобинизированным эритроцитам при обычном ведении опыта

восстанавливающего эффекта не дает. Это подтверждается нашими собственными наблюдениями, опытами Васильевой (65) и другими.

С целью выяснения вопроса о метгемоглобине — образующем действии метиленовой сини *in vivo* — нами были поставлены следующие опыты:

Нормальному животному вводила раствор метиленовой сини в количестве 5 игр. на килограмм веса. Кровь бралась для анализа тотчас же после введения метиленовой сини, затем через 7, 15, 30 и 60 минут (см. табл. № 20).

Как показывают данные таблицы, тотчас после введения метиленовой сини, имеет место образование метгемоглобина, однако, количество его сравнительно невелико и падает уже через 7 минут, а в дальнейшем совсем исчезает или доходит до малых величин, не имеющих практически вредного значения. Данные этих наших опытов подтверждаются Витивкиной (88). „Метгемоглобин, полученный после введения метиленовой сини обнаруживается в крови недолго и переходит снова в гемоглобин. Однако, в наших опытах останавливает на себе внимание в некоторых случаях последующее небольшое увеличение, вслед за первоначальным уменьшением, количества метгемоглобина.“

На основании полученных данных, можно было бы опасаться того, что введение метиленовой сини при высоких степенях метгемоглобинемии, сопряжено с риском для жизни животного, ибо должно было бы сразу повысить содержание метгемоглобина с 70%, например, до 90%.

Т а б л и ц а № 30.

Введение метиленовой сини в количестве 5 mgr. на
килограмм веса собаки.

№ опыта	Количество метгемоглобина в % и общему гемоглобину после введения метиленовой сини.				
	Тотчас	Через 7'	Через 15'	Через 30'	Через 60'
1.	24,3	0,55	0	0	0
2.	17,0	2,8	5,1	8,0	1,9
3.	19,2	7,7	11,5	6,5	0,38
4.	-	6,5	0	0	7,7
5.	17,2	4,7	6,1	12,6	2,5

Для выяснения этого вопроса были повторены упомянутые выше опыты с введением метиленовой сини на фоне метгемоглобинемии, вызванной нитритом (см. табл. 18, на стр. 21...).

Таблица показывает, что введение метиленовой сини в данном случае, точно же снижает количество метгемоглобина, без предварительного его повышения. Метгемоглобинообразующий эффект метиленовой сини в этом случае ~~полностью исчезает~~ ^{совершенно не проявляется}. Возникает вопрос о столь разном действии метиленовой сини у животного в нормальном состоянии и при метгемоглобинемии. Нам кажется, вероятным следующее объяснение: метиленовая синь, поступающая в кровь нормального животного гидрируется как за счет различных органических субстратов, преимущественно повидимому, продуктов углеводного обмена, так и за счет гемоглобина, при этом последний и может перейти в метгемоглобин.

Степень участия этих донаторов в восстановлении метиленовой сини различна и, за счет, возможно, от окислительно-восстановительного потенциала их, а также от соответствующей ферментативной системы. Степень участия гемоглобина, по сравнению с продуктами обмена, очевидно незначительна и в числе других факторов зависит также и от количества его. Продукты обмена непрерывно образуясь поддерживают сдвиг равновесия в системе "метиленовая синь - субстрат" в сторону преобла-

ния ее лейко-форм. А это, в свою очередь, вызывает сдвиг имевшегося равновесия между метгемоглобином и гемоглобином в пользу последнего. Что и приводит, следовательно, к быстрому исчезновению появившегося метгемоглобина.

Если же метиленовая синь вводится животному на фоне высокой степени метгемоглобинемии, то участие небольшого количества оставшегося гемоглобина, в качестве донатора, по сравнению с другими органическими субстратами и непрерывно образующимися продуктами обмена, очень мала или даже полностью отсутствует. В этом случае, введенная метиленовая синь гидрируется только за счет продуктов обмена и тотчас начинает восстанавливать неличествующий метгемоглобин.

Аналогичное предположение высказывает Вышивкина (86), а именно, "что в присутствии метиленовой сини разрушается быстро не только образованный ею самой метгемоглобин, но и метгемоглобин иного происхождения". Но наряду с изучением лечебного эффекта метиленовой сини необходимо обратить внимание на указания многих авторов (Гушильд (83), Вендель (85), Скворцов (75) и др.), что применение метиленовой сини не безразлично для организма в смысле возможности побочного токсического действия ее.

Детальными дозами метиленовой сини, по литературным данным, являются дозы в 40 мгр/кг, дозы в 20-40 мгр/кг. - проявляют резко угнетающее действие

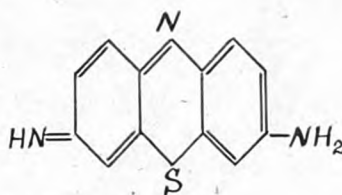
на центральную нервную систему и в особенности на дыхательный центр. Наблюдая за действием метиленовой сини на людей, Оруднев (87) отмечает дизурию, диспенсию, а в моче появление белка, лейкоцитов и эритроцитов.

Другими авторами (Вендель, Вилием (87), Шивкина (98)) отмечается, что под действием метиленовой сини уменьшается количество гемоглобина и эритроцитов, что становится особенно отчетливым спустя несколько дней, после введения метиленовой сини. В опытах Вилиевской (86) метиленовая синь вводилась собакам интравенозно в виде 1%-ного раствора по 1,6 мг/кг. (что при пересчете составляет 16 мг/кг.) и кроликом, учитывая их малую склонность к метгемоглобинообразованию, по 2 мг/кг (20 мг/кг.).

Наблюдения велись в течение 1½ - 2½ месяцев. "Введение метиленовой сини в вену сопровождалось резким беспокойством в поведении животного и одышкой. Вялость наблюдалась в течение 8-10 дней. К 10-12 дню гемоглобин снижался на 43-77%, от своего первоначального, возвращаясь, однако, к 1½ - 2 месяцам к норме. Количество эритроцитов падало на 50-60%. Автор подчеркивает, что из последствий применения метиленовой сини анемизация животного является наиболее важным симптомом. Принимая во внимание, что обычно употребляемые терапевтические дозы метиленовой сини не превышают внутривенно 0,05 гр. в 1%-ном растворе, и что

В наших опытах дозы метиленовой сини не превышали 5 мгр/кгг., можно предположить, что анемизирующее влияние ^{этих доз} метиленовой сини невелико и не может служить препятствием к применению ее. Но все же вследствие замеченных токсических свойств метиленовой сини не - которые авторы (Гаушильд - 83) рекомендуют пользоваться ей вместо нее тионином - веществом, очень близким к метиленовой сини по своему строению и физическим свойствам.

Формула строения тионина следующая:



Тионин так же, как и метиленовая синь может быть акцептором водорода и, кроме того, амидные и амидные группы его допускают присоединения свободных кислот с образованием водно-растворимых солей. При чем по исследованиям Петракова при введении тионина животным - метгемоглобина не образуется.

Считается, что тионином, при внутривенном введении его, активируется аэробная фаза клеточного дыхания, что может быть использовано при сердечной астме, хронической сердечной недостаточности, а так же,

при отравлении окисью углерода и пароксизмическими веществами (Rojahn - 89).

Гауингльд (83) также указывает на тионин, считая его менее токсичным и обладающим даже большей восстанавливающей способностью, по отношению к метгемоглобину, чем метиленовая синь.

Владимировой, Мартинсон были поставлены соответствующие опыты с тионином, в которых последний, как восстановитель метгемоглобина себя не оправдал. Число опытов было небольшим и авторы не решились высказать какое бы то ни было определенное мнение в отношении тионина, хотя полученные данные опытов говорили против его употребления.

Переслегинским (89) были поставлены опыты с применением тионина при острых отравлениях цианидами. Поскольку теперь хорошо известен терапевтический эффект внутривенного введения метиленовой сини при отравлениях цианистой кислотой (Kady - 90 - 94дд), Бруко (91), Гейгер (Geiger - 92) и др.)

Данные опытов Переслегина о применении тионина показали, что доза в 0,5 мл/кг. от смертельного отравления цианистым калием не спасает, однако, при повышении ее до 0,75 мл/кг. - животные вызвали.

Автором приводится следующее объяснение наблюдавшимся фактам. Считая в случаях применения тионина и метиленовой сини при отравлениях цианидами, послед-

нюю более терапевтически мощной. Он указывает, ссылаясь на работы Горелова (93) на то, что внутривенное введение метиленовой сини ведет к более выраженному увеличению количества хлора в крови, чем введение тионина.

"Увеличение хлоридов в крови, связано с стабилизацией буферных систем, вследствие улучшения обмена хлористыми солями между плазмой и ферментными элементами крови, а также между кровью и тканями". Хотя далее, автор обращает внимание на то, что "меньшая лечебная мощность тионина по сравнению с его химической структурой, говорящей о большей активности его по сравнению с метиленовой синью". Подобное противоречие автор пытается объяснить тем, что метиленовая синь как хлорид лучше растворяется в тканевых соках организма, чем тионин. Тем самым ей обеспечивается большая активность в процессах внутриклеточного обмена по сравнению с тионином.

В настоящий момент мы располагаем интересной работой Дмитриевой (62), поставившей опыты, весьма сходные с нашими.

В своих исследованиях Дмитриева изучала вопросы лечения аноксемий, вызванной нитритом натрия.

Животным (собакам) вводился под кожу морфин в количестве 0,01 г/кг. и через 20 - 30 минут в бедренную вену нитрит натрия из расчета 50 мг. на килограмм веса.

Напомним, что наша доза нитрита, которую мы считали сублетальной была 46 мгр. на килограмм веса.

Автора интересовали следующие показатели: выживаемость, изменение кровяного давления, изменения со стороны крови, дыхание, - запись которого производилась на кимограмме. Количество метгемоглобина исследовалось по методу Лавровского. Кроме того, производился подсчет эритроцитов. Контрольные опыты (их было поставлено 8) показали несомненную летальность дозы нитрита натрия (50 мгр/кгг.) - все случаи закончились гибелью животных, спустя 20 - 30 минут после введения нитрита натрия, когда количество метгемоглобина достигало 70 - 78 %. Количество эритроцитов к этому моменту доходило до 2.500.000 - 3.000.000, кровяное давление доходило до 30 мм. Дыхание, вскоре после введения яда, резко учащалось и глубина его увеличивалась, однако, через 10-12 минут оно начинало замедляться, становилось более поверхностным, и спустя 20 - 30 минут наступала полная остановка его.

Автором был применен хромосион - 0,5 гр. на килограмм веса, что соответствует нашей дозе метиленовой сини в 5 мгр. на килограмм веса, который вводился внутривенно спустя 5 - 8 минут после введения летальной дозы нитрита натрия. В данном случае наблюдалась 100%-ная выживаемость животных. Количество метгемоглобина к 30-й минуте составляло лишь следы его. Количество эритроцитов к 20 - 25 минуте

было 3 - 3,5 м. При чем через 45 - 60 минут наблюдалась тенденция к их нарастанию.

Изменений со стороны дыхания не отмечалось особым. Словом, развитие метгемоглобинемии при остром - развивалось, что вполне согласуется с нашими опытами.

Интересно, что автором эти опыты были повторены с применением тионина (1%-ный раствор в 25%-ном растворе глюкозы; та же пропись, что и для хромомона) из 8 животных выжило 3.

Таким образом фактические данные 2-х последних авторов подтверждают все же преимущества применения метиленовой сини перед тионином. Возможно, что для использования потенциальных возможностей тионина, необходимы какие то особые условия. Например, если после введения тионина Дмитриевой вводилась двууглекислая вода, в количестве 0,5 мл/кг., то получался значительно лучший эффект, в этом случае из 11 животных погибло 3.

Выбор двууглекислой воды автором объясняется тем известным положением, что, во первых, в щелочной среде химические реакции, протекают в организме быстрее, чем в кислой и, во вторых, что двууглекислая вода как и глюкоза является средством общего противотоксического действия и даже активизирует внутриклеточное дыхание. Действие бикарбоната в некоторых отношениях считается (Скворцов (75), Любшин (94),

Гаврилюк (35), Васильева (35)) аналогичны действию глюкозы. Общим явлением для глюкозы и для бикарбоната натрия можно считать сопутствующее им понижение кровяного давления и положительное влияние на дыхание. Введение бикарбоната увеличивает щелочной резерв, повышает деятельность карбонатного буфера, стимулирует процесс окисления и восстановления, возбуждая деятельность центральной нервной системы, деятельность периферических, усиливает интенсивность белкового обмена. Положительные результаты с введенным гипертоническим раствором бикарбоната натрия были получены при отравлении хинином, цианидами калием, хлороформом, алкоголем, морфином, мышьяком.

Гаврилюк (35), в опытах с цианидами калием, имел в контрольных опытах 100% гибель животных, при употреблении бикарбоната, имел из 6 животных, выживание в 5-ти случаях.

Васильева (35) получала хороший эффект при отравлениях собак мышьяком при одновременном введении 30% раствора глюкозы и 3% раствора бикарбоната натрия в разных количествах.

Применяя, однако, (на основании опытов Васильевой, что бикарбонат восстанавливает метгемоглобин) одну двухуглекислотную воду при метгемоглобинемии, Дмитриева все-гда имела летальный исход.

Таким образом, выяснение условий для проявления наилучшего действия тех или иных, несомненно представляет большой интерес.

Х основным утверждением, что все живые организмы
кращея восстанавлении метемболизма в гетеротроф
является окисление лактата в неорганическую кислоту
за счет воднорота отщепенного от лактата.

автор пишет: "деревом какашкочидара неабади,
как агенки ошисшильоний от какаша Вадара, Ко.
деревом слугиим кресасишкее дного Вадара на мей.
Кмолаван кеперевешевеи, или через кресасишкее,
Вадарино Вадараду, а какаш Абиссас истонки.
Ком Вадара".

Эти рабочие судят правды и подделывали наши предположения о роли и значении мембрины в процессе восстановления мембранной структуры и т.д. Дают основание думать, что пришедшая на мембрану Синвазель-Ремберг-мембранная и свертывающая такая акция вана-мембрана, на необходимость которой упорствуют всецело на упор (Синвазель-Ремберг).

Так как сама существующая в нормальном состоянии ферментная система как и кодированные в ее состоянии структурах, состоят в высокой степени мембранной структуры, которую мы имели в наших глазах.

Наше письменное указание касательно в согласии с рекомендациями многих авторов и в частности М. Кизе (Вісн. З. 316, 265, 1944, цитировано по Сісцу) работы этого автора показали, что увеличение концентрации лактата влияет на скорость восстановления мембранной структуры лишь в пределах до 0,2%. Большие концентрации лактата Эрдмана угаряющей реакции не дают. При концентрации лактата в крови 0,1-0,2% ферментативная система существенно, вызывая дегидрирование лактата по-прежнему высвобождает субстрат и после того, как достигнут тот предел - дальнейшее увеличение концентрации не дает эффекта.

Франкисса, во внимание, что в наших судах нет еще
бумажек, всегда сопровождаемых удостоверением Комиссии
малолетней комиссии, добавив, что наряду с качеством
внимания, но не качеством никакого другого. Данные Ко
надверждаются нами предположением, что тем же образом
касаются всем скажем, мы архидиакон и убогий
(см. на обороте сир (15) X X

Результаты исследования применения метиленовой сини в качестве восстановителя метгемоглобина позволяют рекомендовать ее в качестве такового.

Метиленовая синь обладает способностью приостанавливать развитие метгемоглобинемии, т.е. предотвращать переход гемоглобина в метгемоглобин. Наиболее ценным при действии метиленовой сини является ее способность быстро восстанавливать поливившийся в результате какого либо отравления, в крови метгемоглобин, тем самым спасая животное от гибели.

В настоящее время мы рассматриваем работу, которая разрешает поставленный нами вопрос о субстрате, для восстановления метгемоглобина в поливившемся состоянии в отношении сахара. Мы имеем в виду диссертационную работу К.Р. Сейфа "Восстановление метгемоглобина в ферментных смесях лактикодегидрогеназы"; в которой автор вполне убедительно и с помощью наших доказательств, что именно лактаза является основным субстратом для ферментативного восстановления метгемоглобина. Другая установка действии ферментной смеси лактикодегидрогеназы автор приходит к заключению, что для приведения в действие данной смеси безусловно необходимо наличие акцептора, наличие всех ее звеньев: фермента лактикодегидрогеназы, карбоната, кофактора, субстрата лактозы и медиатора т.е. гидрогена водорода кофактора на акцептор. Также и переносчиком автор в организме считает диатрофу, в отношении с работой Штраубе (Вост. фронт 34, 483, 1940) последний работал с присоединением красителя лактикодегидрогеназы и на основании своих опытов пришел к заключению, что для действия фермента и карбоната необходимо присутствие кофактора, между гидрированной кофакторной и акцептором. Все приведенные исследования автора дают (см. введ. стр. 2.)

ХХ что в приведенном на стр 69 случае острого
отравления аммиаком повлекшего за собой
резкую мышечную слабость, при которой
мышечная сила была - бы близка к нулю, де-
зорирующая и была бы введена - бы быстрого из-
учерожденного дня, жизни животного сокра-
тилась бы сроки изгнания при повторном ее
введении, не исключая, и одновременного
введения, многократ, как обычно при отравлении
чуждым средой.

Глава II-я.

ВОССТАНОВЛЕНИЕ МЕТГЕМОГЛОБИНА В ГЕМОГЛОБИН ПРИ ПРИ- МЕНЕНИИ ГЛЮКОЗЫ И ЛАКТАТА КАЛЬЦИЯ " IN VITRO ".

Постановка наших опытов *in vitro* несколько от-
личалась от постановки опытов Шалота.

Мы работали с кровью лошади, в отдельных случаях,
с кровью собаки. Кровь помещалась в 2 серии пробирок
в количестве 20 или 40 мл.

В первую серию пробирок прибавлялся нитрит на-
трия $n/10$, с таким расчетом, чтобы получилась раствор
концентрации $n/50$. (Практически это значило, что на
каждые 5 мл. крови прибавлялось по 1 мл. нитрита на-
трия). Кровь в пробирках обеих серий центрифугирова-
лась, после чего плазма из пробирки 1-й серии отса-
живалась, а метгемоглобинизированные эритроциты тща-
тельно отмывались физиологическим раствором от нитрита
натрия двукратным центрифугированием; после чего фи-
зиологический раствор полностью отсасывался и к остав-
шимся метгемоглобинизированным эритроцитам прибавля-
лась плазма из пробирок 2-й серии.

Таким образом мы воспроизводили картину как бы
цельной крови, в которой, однако, эритроциты были по-
чти полностью метгемоглобинизированы.

Полученную таким путем кровь разделяли на 4 про-
бирки по 10 мл или по 5 мл., в зависимости от перво-
начального количества крови.

Пробирка № 1 служила для определения исходного количества метгемоглобина (методом Ван-Слайка). В пробирку № 2 добавлялась глюкоза из расчета 0,08 гр/кг. (считая, что кровь составляет, примерно, 1/15 веса тела). В пробирку № 3 добавлялся, как правило, лактат кальция из расчета 0,13 гр/кг. Пробирка № 4 служила контролем.

Пробирки № № 2, 3 и 4 помещались в термостат или водяную баню с постоянной температурой $T^{\circ} = 38^{\circ}$, с таким расчетом, чтобы каждая, до момента определения в ней количества метгемоглобина, находилась при этой температуре 4 часа.

В виду того, что по техническим причинам, нельзя было одновременно вести три параллельных определения количества метгемоглобина, приходилось производить эти определения последовательно. Но для того, чтобы ограничить себя от ошибок и быть уверенным в том, что содержание всех пробирок выходит одинаковое время под воздействием глюкозы или лактата и в одинаковых условиях протекает спонтанное восстановление в контрольной пробирке, необходимо было создать такие условия, при которых временно приостанавливались бы всякого рода восстановительные процессы.

С этой целью были поставлены соответствующие опыты и, оказалось, что при температуре от 0 до $1 - 2^{\circ}$; восстановление метгемоглобина, как спонтанного, так

и под воздействием глюкозы и лактата полностью прекращается.

Результаты этих опытов показали, что за 4 часа в пробирках № 2, 3, 4, помещенных в условия 0-1-2⁰ - количество метгемоглобина остается неизменным.

Наши наблюдения за действием лактата и глюкозы, а также спонтанным восстановлением, обнаружили, что:

1) о количествах лактата и глюкозы, предложенными Шапотом вообще не наблюдается какого бы то ни было различия между их восстановительной способностью, что находится в противоречии с данными Шапота.

2) Наблюдалось несомненное (хотели сказать, почти одинаковое по сравнению с глюкозой и лактатом) спонтанное восстановление в пробирке № 4, служащей контролем.

Эти же опыты были нами повторены с измененными количествами глюкозы и лактата. Дозы последних были увеличены в 5 раз. В этом случае наши данные оказались более близкими к данным Шапота в том смысле, что действительно обнаружилось некоторое преимущество восстановительной способности лактата перед глюкозой. Повидимому, и здесь сказались видовые особенности крови - лошади и собаки с одной стороны и кролика - с другой (кровь лошади и собаки давала одинаковые результаты).

Таким образом наши опыты показали наличие спонтанного восстановления метгемоглобина в гемоглобин *in vitro* в условиях цельной крови.

При употреблении количеств глюкозы и лактата, указанных Панотом, не наблюдалось заметной разницы в их воздействии и спонтанным восстановлением с одной стороны и преимуществе лактата перед глюкозой - с другой.

При употреблении количеств лактата, увеличенных в 5 раз, наблюдалось небольшое преимущество восстановительной способности лактата перед глюкозой, а также некоторое увеличение скорости восстановления по сравнению с спонтанным восстановлением.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В отдельных главах нашей работы мы рассмотрели литературный и экспериментальный материал, посвященный вопросу о восстановлении метгемоглобина.

В заключение нашей работы мы хотели бы остановиться на некоторых вопросах, непосредственно вытекающих из предоставленного нами материала.

Как уже было упомянуто, вопрос, связанный с метгемоглобинемией составляет часть проблемы кислородного голодания. Организм животного и человека отвечает на кислородное голодание многочисленными сложными реакциями, которые в конце концов, могут считаться компенсаторными. Многие из этих компенсаторных механизмов включаются тогда, когда организм страдает от метгемоглобинемии, например, изменения со стороны сердечно-сосудистой системы, дыхания и т.п. Но, кроме того, при метгемоглобинемии, используется еще один специальный механизм, непосредственно направленный на борьбу с причиной этого вида кислородного голодания - мы имеем в виду наличие спонтанного восстановления метгемоглобина. При этом вопрос о метгемоглобинемии становится уже не только частью общесистологической проблемы кислородного голодания, но приобретает специальный интерес.

Наши исследования показали, что спонтанное восстановление метгемоглобина имеет место в организме, это вытекает из опытов, проведенных в условиях *in vivo* ^{и *in vitro*}. Вместе с тем, эти опыты обнаружили, что такая естественная защитная реакция не всегда в состоянии оградить организм от роковых последствий метгемоглобинемии. И поэтому вмешательство извне, введение восстановителей метгемоглобина приобретает особое значение. Разрешению этой задачи служили наши опыты, с помощью которых мы экспериментально изучили действие трех восстановителей: глюкоза, лактат и метиленовая синь. Эти вещества применялись как восстановители и до нас, но данные, полученные авторами, как это было показано выше, полны противоречий. Последние обусловлены с одной стороны тем, что ряд авторов пытался решать эту задачу в упрощенных условиях *in vitro*, далеких от всего того сложного многообразия реакций, с которыми мы встречаемся в организме; а с другой стороны потому, что отдельные авторы использовали в своих опытах животных различных видов, как известно, обладающих неодинаковой реактивностью в отношении метгемоглобинообразования.

Наши наблюдения показали, что ни глюкоза, ни лактат в условиях *in vivo*, т.е. в действительно единственно мыслимых близких к естественной обстановке условиях, не в состоянии помочь организму в его борьбе с метгемоглобинемией.

Наряду с этим наши опыты показали, что метиленовая синь способна не только предотвратить развитие метгемоглобинемии, когда метиленовая синь вводится непосредственно вслед за нитритом натрия, но и вывести животное из состояния смертельной ато-нии, если метиленовая синь вводится на фоне уже развившейся метгемоглобинемии. Вряд ли можно допу-
стить, что метиленовая синь является единственным веществом, способным оказывать благоприятный те-
рапевтический эффект и поэтому ^{этом} поisons в направле-
нии, представляют интерес.

Согласно последним литературным данным, под-
тверждая результаты наших опытов метиленовая
синь является по-прежнему лучшим терапевтическим
средством при метгемоглобинемии. Те побочные явле-
ния, которые отмечали при введении метиленовой си-
ни в специальных исследованиях по изучению ее ток-
сичности, ^{для наших целей} практического значения не имеют, ибо они
возникают при таких дозах, которые никогда не при-
меняются ^{для} восстановления метгемоглобина. Если
вопрос терапевтической ценности метиленовой сини
при метгемоглобинемии можно считать разрешенным
положительно, то вопрос о механизме восстано-
вляющего действия метиленовой сини, пока, выяснен
только в самых общих чертах.

Мы хотели бы еще отметить, что вопрос восста-
новления метгемоглобина в гемоглобин, приобретает
~~также и определенное практическое значение, если и только~~
~~принять во внимание, что образование метгемоглоби~~
на нередко имеет место при отравлениях промышленны-
ми ядами, боевыми отравляющими веществами и т.д.

ВЫВОДЫ.

1. Глюкоза и лактат, даже в больших дозах не ускоряют восстановления метгемоглобина в крови *in vivo* (у собак) и не могут быть рекомендованы для этой цели.
2. Метиленовая синь в соответствующих дозах, через час после введения, устраняет даже очень тяжелые формы метгемоглобинемии и, что особенно ценно, что количество метгемоглобина начинает уменьшаться немедленно с момента введения метиленовой сини. Предотвращение смерти животного с помощью метиленовой сини возможно даже в агональном состоянии. Метиленовая синь может быть рекомендована в качестве восстановителя метгемоглобина.
3. Введение метиленовой сини устраняет нарушение углеводного обмена, предотвращает (обычно имеющее место при метгемоглобинемии) резкое увеличение количества молочной кислоты и сахара в крови, содержание которых вскоре после введения метиленовой сини снижается и достигает цифр, ниже нормальных, нормальных.
4. Введение лактата одновременно с метиленовой

синью не усиливает восстанавливающего действия метиленовой сини.

5. Метиленовая синь, в условиях живого нормального организма вызывает кратковременную и слабо выраженную метгемоглобинемию, однако, на фоне уже имеющейся метгемоглобинемии, метиленовая синь является восстановителем метгемоглобина. В этом и находит свое разрешение удерзавшийся до сих пор в литературе взгляд на метиленовую синь, как на метгемоглобинообразователь.
6. Процесс взаимодействия метиленовой сини с гемоглобином в опытах *in vivo* может быть выражен схемой, противоположной схеме Варбурга, предложенной им на основании опытов *in vitro*.

В заключение считаю своим долгом поблагодарить заслуженного деятеля науки профессора К.М. БЫКОВА за постоянное внимание, заботу и стимуляцию всей моей работы в руководимом им Отделе.

Проф. Г.Е. ВЛАДИМИРОВА за тему и руководство первыми шагами моей аспирантуры.

Проф. Э.Э. МАРТИНСОН за дальнейшее руководство темой, обеспечившее ее разработку и окончание.

Проф. С.А. БРАЧЛОВСКОГО, моего первого учителя в области биохимии, за то исключительное внимание, которое он уделил моей работе и за создание условий для завершения и оформления ее.

Моих старших товарищей и сотрудников по работе в биохимической лаборатории Отдела Общей физиологии Ленинградского филиала ВИАМ - профессора И.М.Дедюлина, д-ра А.Я.Эпштейн, д-ра мед. наук Е.В.Владимирову, ст.лаборанта К.М.Лорберг и преп. Т.И.Геморину за интерес, проявленный к моей работе, помощь при освоении методики и постановке экспериментов.

ЛИТЕРАТУРА .

1. ДЖ.Б. АРКРОФТ - Основные черты архитектуры физиологических функций. Биомедгиз, 1937.
2. А.И. ЧЕРНЕС - Основы токсикологии боевых отравляющих веществ. Киев, 1939.
3. Г.Т. ВЛАДИМИРОВ - Регуляторные изменения химизма крови и обмен веществ в условиях разреженной атмосферы. Физиолог. журн. СССР XXV, 6, 1938, 779.
4. И.П. НИКОЛАЕВ - Четверть века советской фармакологии. Фармак. и токсик. 6, т. V, 1942, 6.
5. И.А. ОЙВИН - Окислительно-восстановительный потенциал в крови. Бюллетень Эксп. биологии и медицины, т. III, 1937 г., вып. 6.
Окислительно-восстановительный потенциал в крови в физиологии и патологии. Архив патол. анатомии и патол. физиологии, т. IV, 1938 г., вып. 3.
6. И.А. КУРШАКОВ - Кислородная недостаточность при заболеваниях внутренних органов. Клиническая медицина, т. XX, № 3-4, 1943, 3.

7. Ю.П. БРОДОВ - О влиянии отравляющих веществ на нервную систему. Бюллетень Эксп. биологии и медицины, 7-8, т.XVI, в.1-2, 1943, 19.
8. Л.А.ОРЬЯНИ - Черная система при пониженном давлении. Сов.Наука, 1940, 10, 66,71
9. И.Р.ПЕТРОВ - Дальнейшие исследования о переживании ц.н.с. и об оживлении животных после различных форм гипоксемии. Кислородное голодание и борьба с ним. Труды В.М.А. им. Кирова.Т.XXI, 1940, 51.
10. Г.Е.ВЛАДИМИРОВ - Кислородное голодание и борьба с ним. Труды В.М.А. им.Кирова,1939.
11. А.И.ЧЕРКЕС и РОЗОВСКАЯ - Чувствительность сердца к сердечным гликозидам при аноксемии. Физиолог.журн. СССР XXV, 4, 1938, 556.
12. Э.Э.МАРТИНСОН, Т.А.ВЛАДИМИРОВА, Б.Г.ГОРДОН, В.М.ПОТАПОВА - Обмен веществ при метгемоглобинемии и восстановление метгемоглобина. Труды Ленинско-Торского Мед. Академии, 1944 г. (в печати).
13. И.Г.ДАТЫЛОВ - О содержании сахара в крови животных, оживленных после асфиксии. Кислородное голодание и борьба с ним. Труды В.М.А.им.Кирова XXI, 1940, 73.

14. И.М.ДЕДЮЛИН - Кислотно-щелочное равновесие и дыхательная функция крови человека в условиях разреженной атмосферы. Диссертация. Ленинград, 1941 г.
15. HALDANE, POULTON - Journ.physiol.,v.XXXVII, p,390, 1908.
16. V.ZEYNEK - Ueber Bagst Cyanhämoglobin. Hoppe Seylers. Z.t. Physiol.Chem. B.33. 426, 5, 1900.
17. HAUROWITZ - Zur Kenntnis des Mthb und seiner Derivate.v.d.B.I38, 1924, 68.
18. HEUBNER - Arch.Exp.Pathol.u.Pharmak. B.72, 241, 3, 1913.
19. R.L.MEYER - Arch.f.exp.Pathol. u. Pharmak. 1922. Bd.95.
20. W.KÜSTER - Hoppe Seylers Zeitschr.1910, B.66.
21. REINHOLD - Zeitschrift f.Physiol. chem.1913, B.85, 250,B.
22. W.LIPSCWITZ - Umwandlungsprodukte des ungespaltenen Blutfarbstoff. Bethes Hand. d.Physiol.B.VI/I, 1928.
23. HEUBNER, MEIER, RODE - Studien ueber Mthb Bildung I-V Mitt. Arch.f.Pathol.u.Pharmak. B. 100 1923
B. 95 1925
B. 110 1925.

24. К.С.КОСЯКОВ - Об экзогенном и эндогенном мет-
гемоглобинообразовании. Биомедгиги, 4,5, 1959.
25. "- Глютатион крови при метгемоглоби-
немии. Фармакол.и токсикол. 3,т.П,
38.
26. H.WIELAND - Ber.d.D.Chem.Ges. 1912-1914, Bd.46,47.
27. W.LIPSCHITZ - Zeitschrift f.Physiol.Chem., 1920,
Bd.109.
28. Ph.ELLINGER - Ibid. 1920, Bd.III.
29. W.LIPSCHITZ und WEBER - Ueber Mthb-Bildung. Hoppe
Seylers, 2 p. Physiol.Chem. B.132,
251, 9, 1924.
30. R.L.MEYER - Arch.f. exp.Pathol. und Pharmacol.
1922, Bd.95.
31. KNOOP)
32. LEHMANN)
)) Цитировано по книге И.Г.Гельман -
"Введение в клинику профессиональ-
ных заболеваний. 1929.
33. М.И.ДУНАЕВСКИЙ - Труды и материалы Украинского
Института Патологии и Гигиены Труда,
т.XIV, 1935.
34. ГОВОРЧУК - "- "- "-
35. С.М.ДУБАШИНСКАЯ - Изменение глютатиона при не-
которых токсических аноксемиях.
Фармакол. и токсикол. 6, т.П, 21,
1940.

36. Я.А.ЛЕВИН - К характеристике окислительных процессов при отравлении нитро - хлорбензолом. Фармакол. токсик. III, 6, 1940.
37. F L U R Y - Verhandl d.Dtsch. Pharmakol. Ges. 10 Tag. Arch. f.exp. Path. u.Pharmak. 1930, Bd. 157, S.104.
38. PFLESSER - Arch.f.exp.Path.u.Pharmakol. 1935, Bd.179, S.545.

Последние два автора цитированы по следующей работе:

39. В.В.ЗАКУСОВ - Токсическое действие нитрогазов, получаемых различными способами. Физиол.журнал СССР, т.XX,3, 545.
40. R.KOBERT - Ueber Cyanmethämoglobin und den Nachweis des Blausäure. Stuttgart, 1891.
41. MLADOWEANU et CREORCHIU - Le nitrite de Soude comme antidote de l'empois. exp. par le cyanure. C.R.Soc.Biol. T.102, 164 p. 1929.
42. H U G - Les substances methemoglobin isantes comme antidotes de l'intoxication cyanhydrique. C.R.Soc. Biol. T.112, 511 p. 1933. T.114, 82, 86, 947 pp. 1933.

43. WENDEL - J. Biol. Chem. 102, 373, 1932
102, 385, 1933.
44. В.М.КАРАШИН - Биологические реакции метгемоглобина и его значение в обезвреживании ядов. Физиол. журн. СССР XIX, 2, 575.
45. Г. МЕТЕР и В.ЮТНИК - Экспериментальная фармакология как основа лекарственного лечения. 1941.
46. ЖЕЛИН - Цитировано по след. работе:
47. В.И.РОЗЕНБЕРГ - Метгемоглобинообразующие агенты, как противоядия при отравлении кислотой натрия. Физиол. журн. СССР XXII, 6, 896, 1937.
48. АРАКИ - Morre Seylers Zeitschr. f. Physiol. Chem. Bd. 14, 1890, 405 S.
49. И.А.ОБВИН и А.И. ГУНИНА - Механизм действия метгемоглобина как антидота при отравлении сероводородом. Фармакол. и токсикол. 6, т. III, 1940.
50. И.Г.ГЕЛЬМАН - Введение в клинику профессиональных отравлений. 1929.
51. DITTICH - Arch. exp. Pathol. und Pharmacol. 29, 274, 1892.
52. А Р О Н - Bioch. Zeitschrift 3, I, 1906.

53. HARROP, G.A. und BARRON, E.S. - Studies in blood cell metabolism I.

The effect of methylene blue and other dyes upon the oxygen consumption of mammalian and avian erythrocytes. Journ. exp. Med. 1928, v. 48, p. 207, 42.

- BARRON, E.S. und HARROP, A. - Studies on blood cell metabolism II.

The effect of methylene blue and other dyes upon the glycolysis and acid formation of mammalian and avian erythrocytes. Journ. biol. Chem. 1928.

v. 79, pp. 65-67.

v. 84, pp. 89, 1928.

54. W. ENGELHARDT - Bloch. Zeitschr. 227, 16, 1930.

" 6.

55. O. WARBURG, F. GUBOWITZ, W. CHRISTIAN - Ueber die katalytische Wirkung von Methylblau in lebenden Zellen. Bloch. Zeitschrift 227, 245, 1930.

56. PROOKS, M.M. - Proc. Soc. exper. Biol. Med. 31, 1134, 1934.

" - California & Was. Med. 41, № 2, 1934; 46, № 5.

Цитировано по следующей работе:

57. В. С. ШАПОВ - О механизме биологического роста - появления метгемоглобина в безъядерных и ядерных эритроцитах. Биохимия, т. 3, в. 4, 1939.

В.С.ШАПОТ - Труды Физиологич. Института. 1937.

Изд. Л.Г.У.

58. CONANT and FLIESER - Journ. biol. Chem. 62, 595, (1915)

59. Van-SLYKE - Journ. biol. Chem. 66, 409, 1925

78, 807, 1928

84, 205, 1928

60. SAKURAI - Arch. exp. Pathol. u. Pharmacol.

107, 287, (1925)

109, 189, (1925).

61. KRUSE, T.K., W.S. Mc ELLROG and c.c. GRETHRIC - Meth-

emoglobinemia. Journ. of pharmacol.

and exp. Therap. Bd. 31, N 23, s.208,

1927.

62. П.М.ДМИТРИЕВА - К вопросу лечения аноксемии,

вызванной азотистоксическим натрием.

Фармак. Токсик. т.У1, в.4.

63. В.В.ВАСИЛЬЕВА - К вопросу о децетгемоглобинии -

зации. Труды 1-й Сессии Моск.Общ.

фармакологов, биохимиков и физио-

логов, 1941, стр.47.

64. Э.Э.МАРТИНСОН, Е.А.ВЛАДИМИРОВА, В.М.ПОТАПОВА,

Д.П.УРИНСОН - Обмен веществ при

метгемоглобинемии (Рукопись).

65. В.В.ВАСИЛЬЕВА - О противотоксических свойствах

глюкозы. Фармак. и Токсик. 1941,

т.1У, в.3, стр.25, 1943.

66. Н.Н.СИРОТИНИН - Об аноксической аноксемии. Клин.

Мед.т.XIX, № 3, 1941, стр.5:

67. В.С. ВАШЬ - О влиянии температуры окружающей среды на возрастные колебания чувствительности к кислородному голоданию. Педиатрия, 5, 1948, стр.2.
68. Л.Е.ПАЛЬГОВА и ВЛОБУЕВ В.П. - Дыхание в условиях пониженного атмосферного давления в фило-и онтогенезе. Н.Э.Б.и Ч. т.Х, в.6, стр.454.
69. В.М.КАРАСИК - Выносливость белых мышей к кислородному голоданию токсического происхождения в различных периодах роста. Бюлл.Эксп.Биологии и Медицины, 1940, X, 3, 206.
70. К. КОВЕРТ - Beiträge zur Kenntniss der mthb. pflüg. Arch.B.82, 1900, 603 s.
71. А.И.КОЛОТИЛОВА и В.А.ЭНГЕЛЬГАРДТ - Проницаемость, гликолиз и распределение сахара в эритроцитах. Биохимия II, 2, 387, 1937.
72. И.А.ОТВИН и НАВШИН - Архив патол.анатомии и патол.физиологии 6, 1937.
73. И.И.ПЕТРОВИЧ - Окислительно-восстановительный потенциал в биохимических процессах. Успехи биол.химии, в.Х, 1933.

74. Х.О. КОШТОЯНЦ - Основы сравнительной физиологии, 1940.
75. В.И. СКВОРЦОВ - Курс фармакологии, 1943.
76. WARBURG, O. - Zeitschr. physiol. Chem. 39, 112, 1909.
Bioch. Zeitschr. 142, 317, 1923.
77. В.А. ЗИТЕЛЬГАРДТ и ЛЕВИКОВА - ДАН 2, 321, 1936.
78. Р. ЛЕВИКОВИЧ - Влияние метиленовой сини на дыхание эритроцитов развивающегося организма. Физиол. Журн. СССР, т. XXIX, в. 8, 200, 1940.
79. Д Е З Ч - Цитировано по Скворцову.
80. БЕССАРАЕВА - Цитировано по следующей работе.
81. Т.И. КАЗАНЩИНА - Митогенетическое излучение при отравлении крови и организма фтордами и действие промежуточных продуктов гликолиза. Диссертация 1948 г.
82. КОМН - Amer. Journ. Obst. Gyn. 36, N 2, 237, 1938.
Цитировано по Милликиной.
83. HAUSCHILD - Naunyn - Schmiedeberg's Arch. 182, 118, 1936.
84. HAUSCHILD - Klinische Wochenschrift, II, 1580-1581, 1939.
85. WENTZL - Journ. of clin. Invest. vol. XVIII, 179, 1939.

86. А.С.ВЫШИВКИН - Анемизирующий эффект интравенозного введения метиленовой синьки. Фармак.и Токсик. 1942, 5, т. V, стр.48.
87. ОРУДЖИЕВ - Труды 1-го съезда Азербайджанского Медицинского Об-ва, стр.215, 1936.
Цитировано по Вышивкиной.
88. STAFEL, WILLIAM, Marina HAFFLEY - Berichte ueber gesamte Physiol. Referat 82, 7/8, 1935.
89. И.Р.ПЕРЕСЛЕГИН - Лечение тионином острых отравлений цианидами. Фармак.и Токсик. 4, т. VI, 1942, стр.10.
90. EDDY, W.B. - Journ. Pharmacol. 39, 271, 1930.
91. BROOKS, M. RONAS - Berichte 70, 414, 1933.
73, 557, 1935
95, 25, 1936
92. GEIGER, J. - Am. med. ass. XLIX, 1944, 1931.
93. ГОРЮЛОВ - Цитировано по Переслегину (89)
94. ЛЮБИМИН А.А. - И вопросу о противотоксическом действии бикарбоната натрия.
Фармак.и Токсик. т. III, 1940, стр.64.
95. А.А.ГАВРОШИН - Динамика противотоксических свойств двууглекислой соды. Фарм. и Токсик. : , т. III, 1940, стр.57.