

Проф. А. Т. ПЕТРЯЕВА

О содержании витамина А в печени детей и человеческих плодов разного возраста

Из детской клиники Смоленского медицинского института (зав. А. Петряева) и биохимической лаборатории клинической больницы

Учение о витаминах выросло за последние годы в самостоятельную научную дисциплину, давшую уже чрезвычайно много интересных и ценных фактов, изучившую довольно детально химию многих витаминов, открывшую ряд новых веществ витаминной природы, давшую ряд новых положений о физиологической роли витаминов в человеческом организме. Особенно велико значение витаминов для растущего детского организма, правильное развитие которого нарушается при витаминной недостаточности. Потребность ребенка в витаминах превышает потребность взрослого человека, и у детей гораздо легче, чем у взрослых, развиваются гиповитаминозные состояния. Наиболее правильный путь изучения гиповитаминозов сводится к изучению обмена отдельных витаминов в организме. Изучение витаминного обмена стало более доступным при возможности определения витаминов химическим путем в тканях и выделениях животного организма.

Для химического определения витамина А предложен ряд методов: Бессонова, Друммонда, Карра и Прайса и других. Наиболее чувствительной, но очень нестойкой является реакция Друммонда с треххлористым мышьяком.

Лучшей методикой считается реакция Карра и Прайса. Реактивом является 30% раствор треххлористой сурьмы в хлороформе. На 0,2 см³ раствора жира (или исследуемой вытяжки) прибавляется 2 куб. см треххлористой сурьмы. Наблюдение производится в продолжение 30 секунд после смешения. Получается темносинее окрашивание, которое через несколько секунд принимает ряд переходных оттенков. Это так называемая синяя реакция Карра и Прайса.

Затем, существует более старая реакция Друммонда. Исследуемый жир растворяется в бензоле. При прибавлении 1—2 капель концентрированной серной кислоты получается синяя окраска. Наконец, определение витамина А возможно спектроскопически. Все это—качественные пробы на витамин А. Гораздо важнее бывает определить количество витамина в той или иной ткани. Некоторые авторы пытаются применить существующие реакции для количественного определения. Адамова пользуется для этой цели методикой Бейли, Кэннон и Фишера—цветной шкалой из смеси растворов кристаллвиолета и метилвиолета в спирте. Заготавливаются 25 пробирок: в первую наливают 0,01 к. см раствора, во вторую 0,02 к. см, в третью 0,04, в четвертую 0,06 и т. д. Все пробирки дополняются спиртом до 2 к. см. После производства реакции Карра и Прайса в продолжении 30 сек.

производится сравнение с различными номерами пробирок. Адамова считает до 5 „мало“, до 10 „немного“, до 15 „умеренно“, до 20 „много“, до 25 „очень много“. Ясно, конечно, насколько мало удовлетворительно такое количественное определение.

Голяницкий пользуется для этой цели компаратором Михаэлиса, куда вставляется пробирка с результатом полученной реакции на витамин А. Для сравнения употребляются по принципу Михаэлиса пробирки, содержащие различное количество раствора метиленовой синьки. Голяницкий условно берет основной раствор (содержащий в 1 к. см 0,0001 г краски) за 1000 „синей“, а раствор, содержащий 0,02 основного раствора на 20 к см воды за 1 „синю“. Не говоря уже о трудности пользования компаратором Михаэлиса в продолжение 30 сек., сама единица измерения—„синя“—кажется очень неточной и искусственной.

За неимением треххлористой сурьмы, мы вынуждены были пользоваться методикой Друммонда с серной кислотой. Вытяжка из печени (и других органов) готовилась по Тархову, как для реакции Карра и Прайса: 20 г вещества органа измельчались до состояния пюре, затем смешивались с 20,0 безводного сульфата натрия и растирались в ступке до состояния мелкого порошка, который в банке с притертой пробкой оставлялся на сутки. Затем прибавлялось для извлечения витамина 40 к. см серного эфира. Через 48 часов после многократного встряхивания эфир сливался и фильтровался; из общего количества отмеривались 10 к. см эфирной вытяжки, которые подвергались выпариванию в водяной бане, затем экстракт подсушивался и растворялся, но не в хлороформе (как для реакции Карра и Прайса), а в 5 к. см бензола. С этим бензольным раствором вытяжки и делалась реакция Друммонда с серной кислотой. В положительном случае получается синее окрашивание.

Для количественного определения мы условно приняли за химическую единицу витамина А нижнюю границу положительной реакции и затем вычисляли, какому количеству вещества это соответствует. В ряд стаканчиков наливается по 5 к. см бензола, и в них прибавляется различное количество основного бензольного раствора экстракта органа. Например, экстракт печени дает положительную реакцию различной степени интенсивности в ряде стаканчиков; последняя положительная реакция получается при 0,05 основного раствора. Так как вместо 40 к. см эфира, которыми извлекался витамин А из 20 г печени, для реакции бралось только 10 к. см эфира, то количество печени, взятой для реакции, следует считать равным 5,0. В дальнейшем расчет следующий: экстракт 5,0 печени растворен был в 5 к. см бензола: сколько граммов печени содержится в 0,05

этого раствора? $\frac{5 \times 0,05}{5} = 0,05$. Следовательно, нижнюю границу

положительной реакции дают 0,05 печени; принимаем это количество за условную витаминную единицу. Вычисляем, сколько будет единиц

в 100 г печени: $\frac{1 \times 100}{0,05} = 2000$ условных единиц.

Витамин А называют витамином роста и „охранителем здоровья“. Он содержится в тресковом жире, еще больше в акульем, сливках, масле, желтках, в свежих желтых и зеленых овощах. В растениях витамин А содержится, главным образом, в листьях, где он и соз-

дается в процессе роста при участии фотосинтеза (Вильсон, Ковард). Авитаминоз А проявляется гемералопией, ксерофтальмией, задержкой роста, предрасположением к инфекциям. Формула витамина А $C_{20}H_{30}O$. По данным Друммонда, Мура, Пальмера, Эйлера, Вольфа и других витамин А близко стоит к каротину, который рассматривается как провитамин А. При разделении каротина и ксантофила витамин остается с каротином. Принимают, что каротин, являющийся углеводородом с формулой $C_{40}H_{56}$, имеющий в растворе желтый цвет, в животном организме (печени) перестраивается, становится бесцветным и превращается в витамин А (Морес). Моор вызывал экспериментальный А-авитаминоз, затем часть животных после развития авитаминозного состояния кормил кристаллическим каротином. Обе серии животных убивались. У животных, получавших каротин, в печени имелся витамин А, а у животных, не получавших каротина, витамин А в печени отсутствовал. Переход каротина из пищи в печень в животном организме по Эйлеру (1933) осуществляется следующим образом: каротин в присутствии солей желчных кислот и парных желчных кислот с аминокислотами (напр., гликоколевая, которая присутствует в кишечнике) легко переводится в истинный раствор, который дифундирует через кишечную стенку и попадает в кровь. Освобождение каротина от составных частей желчи происходит в печени, где каротин и откладывается. Превращение каротина в витамин А по Карреру сводится к присоединению к одной молекуле каротина двух молекул воды, после чего она распадается на две молекулы витамина А: $C_{40}H_{56} + 2H_2O = 2C_{20}H_{30}O$. Печень, как витаминное депо, была уже довольно давно использована с терапевтическими целями при А-авитаминозных состояниях.

Приняв, как доказанное, положение, что витамин А образуется и депонируется в печени, мы имеем все же ряд неясностей в этом вопросе. Как велики запасы витамина А в печени человека? Изменяются ли эти запасы в зависимости от возраста? Когда начинается отложение витамина в печени ребенка, внутриутробно или внеутробно? Чтобы составить представление о содержании витамина в печени человека, была исследована печень 10 детей и 5 взрослых, погибших от разных причин, где смерти не предшествовало заболевание, которое могло бы резко изменить физиологическое состояние печени и содержание в ней витамина А. Причины смерти следующие: автомобильная травма—3 случая, трамвайная травма—3 сл., огнестрельное ранение—2, ножевое ранение—1, задушение—2, замерзание—2, повешение—2 сл. Смерть последовала или моментально или чрез несколько часов после травмы. Исключение представляют двое маленьких детей, погибших от замерзания, где время наступления смерти неизвестно. В органах этих трупов на секции не было обнаружено никаких патологических изменений, кроме непосредственно связанных с насильственной смертью. Располагая полученные цифры содержания витамина А в печени по возрастам, получаем следующую таблицу (см. стр. 17).

Анализируя полученные цифры, мы находим у детей в 7 случаях из 10 секций, т. е. в 70%, содержание витамина А на 100 грамм печени равным 6000 условных хим. единиц. В одном случае (у 9-летней девочки, умершей от ранения в живот) получилась цифра еще большая, в 7200 единиц, и лишь в двух случаях (у новорожденного ребенка, погибшего от замерзания и у 7-летнего ребенка, умершего

Таблица 1.

Число случ.	Возраст	Содержание витамина А в печени отдельных трупов		
2	0—1	6000	1250	
1	1—2	6000		
3	2—5	6000	6000	6000
3	5—10	6000	7200	3000
1	10—15	6000		
3	35—40	1250	1250	500
1	40—50	1250		
1	70 л.	250		

от автомобильной травмы) содержание витамина А в печени оказалось уменьшенным по сравнению с другими. Что же касается взрослых, то концентрация витамина А в печени у них оказалась гораздо меньшей. Цифра в 1250 единиц, самая маленькая в детской группе, оказалась максимальной для взрослых. Самую маленькую цифру содержания витамина А в печени дал 70-летний старик, окончивший жизнь самоубийством через повешение.

Мы считаем возможным принять за среднее физиологическое содержание витамина А в печени ребенка 6000 условных хим. единиц в 100 граммах печени. Если принять данные Ковальского, что печень новорожденного равняется в среднем 130 граммам, у годовалого ребенка 320, у 3-летнего 457, у 10-летнего 800, у 16-летнего 1260 г., то количество витамина А в печени в эти же возрастные сроки приблизительно выразится в 7800 условных хим. единиц для доношенного новорожденного, в 19200 для годовалого, в 27000 для 3-летнего, в 48000 для 10-летнего и 75600 единиц для 16-летнего. Таков предварительный ответ на первый вопрос о количестве витамина А в печени ребенка.

Ответом на второй вопрос о влиянии возраста на запасы витамина А в печени является факт выраженного снижения количества витамина А за пределами детского возраста. В пределах же самого детского возраста идет постепенное увеличение общего количества депонированного витамина в связи с увеличением массы печени. Чем ребенок моложе, тем общее количество депонированного витамина А меньше. Отметить увеличение концентрации витамина А в печеночной ткани в период максимально бурного роста (первый год жизни) по сравнению с последующими годами роста не удастся, так как на 100 г печени получаем в среднем 6000 единиц и у грудных детей и у детей школьного возраста.

Теперь остается ответить на последний из поставленных вопросов: когда начинает откладываться витамин А в печени ребенка. Среди больных, обследованных на наличие витамина А в печени, имеется один 16-дневный ребенок и один двухмесячный; у одного витамин А обнаружен в количестве 1250 единиц на 100 г печени, у другого 6000 единиц. Следовательно, у новорожденных детей витамин А в печени имеется. Трудно предположить, чтобы этот витамин отложился исключительно за такой короткий период жизни, как 16 дней. Вероятнее всего, что депонирование витамина А происходит еще внутриутробно.

Чтобы проверить это и получить представление о сроках отложения витамина А, мы исследовали печени от плодов различного внутриутробного возраста (результаты абортот и преждевременных родов мертвыми плодами), а также печень нескольких недоносков, родившихся живыми, но умерших через несколько часов. Всего обследовано 30 плодов. Результаты исследования печени таковы:

Таблица 2.

Возраст плода (в месяцах)	Результаты исследования на содержание витамина А			
	+	—	±	Всего случ.
1—3	0	3	3	6
3—5	1	5	—	6
5—8	6	5	1	12
8—10	6	0	—	6

Совершенно очевидно, что количество положительных реакций увеличивается с возрастом: в группе от 1 до 3 месяцев еще нет положительных реакций, среди 3-5-месячных одна положительная реакция из шести, среди 5—8-месячных плодов положительную реакцию дают 6 из 12 (50%) и в группе 8—10-месяцев—все 100% исследованных плодов дают положительную реакцию. Яснее это положение становится при определении количества витамина А в печени плодов и недоносков в разные возрасты. Если отобрать случаи только с положительной реакцией, расположить по возрастам с указанием количества витамина А, то получится следующая картина:

Таблица 3.

Число случ.	Возраст плодов (в месяцах)	Количество витамина А на 100 г печени					
1	3—5	156,5					
6	5—8	1250	1000	625	625	625	625
6	8—10	2500	2500	1250	1250	1250	625

Естественно сделать вывод, что основная масса витамина А в печени плода откладывается в последние два месяца внутриутробной жизни. Витамин А в первую половину беременности в печени плода или отсутствует, или количество его минимально. Большая недоношенность ребенка, следовательно, обуславливает малый запас или даже отсутствие витамина А в его печени.

Что касается вопроса о содержании витамина А в других органах и тканях человеческого тела, то по литературным данным он имеется в околопочечном жире и крови, а также в молоке женщин. Содержится ли фактор А в каких-либо других органах и имеется ли в организме еще какое-либо А-витаминное депо, на это в литературе мы исчерпывающего ответа не нашли. Профессор Тангаузер в руководстве по обмену веществ, ссылаясь на Крамера, говорит: „У человека, повидимому, имеется естественный склад витамина А в некоторых жировых скоплениях тела. Человек накапливает витамин А также и в других органах, так что он не так чувствителен к недостатку этого витамина, как быстро растущее и недолго живущее животное“. Но в каких органах накапливается витамин, остается неясным; Тангаузер не упоминает даже о печени, как витаминном депо. Поэтому нами был подвергнут исследованию ряд различных органов

на содержание в них витамина А. Прежде всего интересен вопрос, не является ли во внутриутробном периоде плацента источником фактора А для плода. На этот вопрос мы пока должны ответить отрицательно, так как во всех случаях исследования плаценты реакция Друммонда на витамин А оказалась отрицательной. Затем явилась мысль, не содержится ли витамин А в органах внутренней секреции, которые сецернируют гормоны роста (по аналогии с богатым содержанием витамина С, определяемого нами во всех железах внутренней секреции). С этой целью были подвергнуты исследованию гипофиз, щитовидная железа, зубная и надпочечник. Ни в одном случае при этом не была получена положительная реакция. Исследованию на содержание витамина А нами были подвергнуты также почка, селезенка, кишечная стенка и поджелудочная железа. Положительная реакция на витамин А была получена лишь с тканью поджелудочной железы. Количество фактора А в поджелудочной железе определялось в среднем в 125 условных единиц на 100 г органа.

Что касается крови, то имеется указание, что в крови человека содержится витамин А, но нет точных указаний относительно количества. Кауфман и Дригальский определяли содержание в крови каротина у 1000 человек и нашли, что в 85% случаев каротин находится в пределах 0,01 мг% (следы). В 15% найдены более высокие цифры, до 0,27 мг%.

На основании наших пока немногочисленных исследований по содержанию витамина А в детском организме можно сделать следующие предварительные выводы:

1) Витамин А откладывается в большом количестве в детской печени, представляющей основное А-витаминное депо. Количество витамина в среднем составляет 6000 принятых нами условных единиц на 100 г детской печени.

2) Отложение витамина А в печени начинается внутриутробно: у плодов 5—8 месяцев внутриутробного возраста в 50% определяется витамин А в печени. В печени же 8—10-месячных плодов уже в 100% определяется витамин А. Количество витамина в печени плодов также увеличивается с внутриутробным возрастом (от 625 до 1250—2500 единиц).

3) Большая недоношенность (меньше 8 месяцев) обуславливает у недоносков недостаточность или даже отсутствие депонированного в печени витамина, что не может не отразиться в дальнейшем на развитии ребенка.

4) Количество витамина в печени детей увеличивается параллельно с ростом органа, что дает возможность старшим детям дольше переносить отсутствие фактора А в пище, чем детям раннего возраста.

5) У пожилых людей количество витамина А в печени резко уменьшено по сравнению с детским возрастом.

6) Витамин А, кроме печени, обнаруживается также в другой большой пищеварительной железе—панкреасе, но в гораздо меньшем количестве, чем в печени (в среднем 125 хим. единиц на 100 г вещества).

7) В других железистых органах, в том числе и в железах с внутренней секрецией, витамин А по методу Друммонда не определяется.

Поступила 21.IV. 1939.