

Доц. Л. А. ЮРЬЕВА

Фосфатаза крови при экспериментальном рахите у крыс

Из детской клиники Казанского госуд. ин-та усовершенствования врачей имени В. И. Ленина (директор кл-ки заслуженный деятель науки проф. Е. М. Лепский)

Механизм, при помощи которого организм ребенка поддерживает на определенном уровне содержание неорганического фосфора в крови, до настоящего времени точно не установлен. Целый ряд заключений по этому вопросу носит гипотетический характер. Наиболее обосновано выдвинутое за последние годы положение о том, что регуляция содержания неорганического фосфора в крови находится в связи с деятельностью фермента фосфатазы. В 1923 г. Робизон установил, что в костях имеется фермент, расщепляющий фосфорные эфиры с образованием неорганического фосфора. Изучению этого фермента посвящено много работ (Кэй, Боданский, Робизон, Кримм, Стрейер и др.).

Роль фосфатазы при окостенении сводится к следующему. В костной и хрящевой ткани благодаря деятельности фосфатазы происходит отщепление неорганического фосфора от фосфорных эфиров протекающей крови. При определенном рН (7,5—7,4) из омывающей костную ткань плазмы крови происходит выпадение солей кальция. Выпавшие соединения кальция реагируют с этими фосфорами, в итоге чего образуются типичные для нормальной кости фосфорно-кальциевые соли— $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и CaHPO_4 . Следовательно, фосфатаза регулирует содержание неорганического фосфора в месте окостенения (Демут). Этот фермент находится в растущей кости, главным образом в отделах наиболее интенсивного отложения кальциевых солей, т. е. в зоне препараторного обызвествления и в периосте.

Как известно, при рахите имеется нарушение минерального обмена, связанное с изменением количественного соотношения между кальцием и фосфором. Гипофосфатемия, наблюдающаяся при рахите, играет огромную роль в расстройстве нормального окостенения. Изучение обмена фосфатазы при рахите обнаружило, что у рахитических животных имеется увеличенное количество фосфатазы не только в костях, но и в крови, почках и кишечнике (Кэй, Гейманн, Робизон, Боданский и др.). Сыворотка детей-рахитиков в 7 раз сильнее расщепляет фосфорные эфиры, чем нормальная (Демут, Андерсен, Спирас и др.). У рахитических собак получены такие же результаты (Робизон).

Причина увеличения активности фосфатазы при рахите до сих пор не выяснена. Экспериментальные работы Гейманна показали, что при рахите значительно увеличивается активность фосфатазы почки; большее выделение фосфатов с мочей при рахите происходит при ближайшем участии фосфатазы. Николайсен считает, что уменьшение

содержания неорганического фосфора в крови связано при авитаминозе Д с увеличением выделения фосфатов. Исследования Кэя обнаружили, что незначительное увеличение содержания магния в среде, где находится фосфатаза, значительно повышает ее активность. При рахите обмен магния нарушается главным образом в местах окостенения в сторону его увеличения. Повышение содержания магния, которое наблюдается в рахитичной кости, должно быть поставлено в связь с большим количеством остеоидной ткани.

Не лишен интереса тот факт, что при рахите обнаружено изменение деятельности фосфатазы в кишечнике. Фосфаты всасываются только в виде неорганического фосфора и его соединений, полученных в желудке и главным образом в тонком кишечнике в результате расщепления органических соединений фосфора; только в кишечной стенке, печени и других органах происходит обратный синтез фосфорных эфиров. В тонком кишечнике, где происходит наибольшее всасывание фосфатов, при рахите значительно понижена активность фосфатазы, при участии которой осуществляется расщепление органического фосфора (Гейманн). Это явление, повидимому, ведет к уменьшению резорбции достаточного количества неорганического фосфора.

За последнее время большинство исследователей пришло к заключению, что в основе нарушения обмена фосфора лежит недостаточное количество в крови фосфорных эфиров — материала, из которого фосфатаза образует неорганический фосфор. По данным Стирнс и Бомскова количество фосфорных эфиров в плазме и эритроцитах наибольшее в период интенсивного роста костей. При рахите у детей (Боданский, Тэрнер) и при экспериментальном рахите у крыс (Кэй, Якобсон) количество фосфорных эфиров уменьшается и не может служить тем резервом, за счет которого регулируется содержание неорганического фосфора, благодаря действию фосфатазы.

Нельзя обойти молчанием и тот факт, что наличие ацидоза при рахите создает условия, при которых деятельность фосфатазы кости невозможна. Наблюдения Кремера показывают, что небольшое изменение среды в местах окостенения с рН 7,4 до 7,1 резко тормозит процесс образования фосфорно-кальциевых солей и причина этого — в понижении активности фосфатазы, т. к. оптимум проявления ее действия возможен при рН 7,5—7,8 и выше.

Обмен фосфорных эфиров тесно связан с обменом витамина Д, который повидимому оказывает влияние на уровень фосфорных эфиров и содержание фосфатазы в организме. Витамин Д мобилизует фосфорные соединения тканей, обуславливая их переход в кровь и отщепление от них фосфатазой неорганического фосфора. В связи с этим обеспечено достаточное отложение фосфорнокальциевых солей в костной ткани. Во всяком случае бесспорно установлено, что витамин Д в первую очередь действует на обмен фосфора и повышает количество неорганических фосфатов в крови при рахите. Учитывая все вышеизложенное, мы получаем впечатление, что нарушение обмена фосфатазы при рахите является вторичным явлением, связанным с авитаминозом Д.

Детальное и углубленное изучение патогенеза различных заболеваний и в частности рахита позволяет ближе подойти к раннему диагнозу, правильному лечению и прогнозу. С этой точки зрения изучение обмена фосфатазы представляет значительный практиче-

ский интерес. Исследование фосфатазы крови, проведенное мною на клиническом материале, показало, что наблюдение над изменением содержания этого фермента при рахите имеет диагностическое значение и, видимо, более постоянное, чем другие биохимические данные. Для проверки этого мы провели экспериментальное исследование.

Наши опыты проводились на крысах, у которых был получен рахит кормом, предложенным Шерманом и Паппенгеймером под № 84. Его состав: пшеничной муки 95%, молочнокислого кальция 2,9%, хлористого натра 2% и лимонно-кислого железа 0,1%. Содержание кальция в этом корме 0,55 г, а фосфора 0,076 г. на 100 г, он дается животным в виде лепешек на дистиллированной воде. В качестве питья экспериментальные животные получали дистиллированную воду, т. к. обычная вода содержит известь и может изменить соотношение кальция и фосфора и помешать опыту. Животные, на которых проводилось исследование, были в возрасте 3—4 недель, с весом 45—60 г. У 34 крыс после 3-недельного пребывания на рахитогенном корму делались рентгенограммы задних конечностей, т. к. проксимальный конец большеберцовой кости дает наиболее ясные рахитические изменения. Для определения фосфатазы, P и Ca кровь насасывалась из сосудистого пучка, прилегающего к сердцу, и из полости сердца; крысы предварительно слегка оглушались эфиром. При вскрытии животного макроскопически определялись изменения, свойственные экспериментальному рахиту. Неорганический фосфор определялся по способу Тисдаля в модификации профессора Е. М. Лепского для микрометода. Кальций исследовался по методике, предложенной де-Ваардом. Фосфатаза определялась по способу Смис и Майцелшена в модификации Кэя. Метод определения фосфатазы состоит в том, что при прибавлении к сыворотке субстрата, содержащего фосфорные эфиры, фосфатаза сыворотки расщепляет эти эфиры с образованием неорганического фосфора. За единицу действия активности фосфатазы принято считать то количество, которое отщепляет 1 мг неорганического фосфора; при разнице между контролем и опытом в 2 мг фосфора имеется 2 единицы фосфатазы и т. д.

Для получения сравнительных данных, аналогичные исследования производились на здоровых молодых крысах одного возраста и веса с опытными животными и у нескольких взрослых крыс. Всего для контроля было взято 18 животных.

Рентгеновское исследование у крыс с экспериментальным рахитом обнаружило в проксимальном метаэпифизе большеберцовой кости расширение зоны препараторного обызвествления с нечеткими и неровными контурами, в то время как у контрольных крыс изменений не обнаружено. Макроскопически при вскрытии опытного животного можно было обнаружить рахитические четки. На разрезе проксимального конца большеберцовой кости имелась широкая хрящевая прослойка между эпифизом и диафизом, нижняя граница, обращенная к диафизу, имела неправильную и неровную линию. Кость мягкая и легко режется.

Биохимические данные у молодых и взрослых крыс отличаются следующими особенностями. Фосфатаза сыворотки крови у молодых животных активнее, чем у взрослых. В возрасте от 1 до 2 месяцев содержание фосфатазы колеблется от 0,9 до 1,9 единиц — в среднем 1,4; у взрослых крыс — от 0,4 до 0,8 — в среднем 0,6. Содержание

фосфатазы в крови у крыс больше, чем у человека в 10—15 раз. У детей активность фосфатазы 0,2—0,3 единицы (Тейманн, Юрьева, Кримм), у взрослых 0,1—0,15, тогда как у крыс 0,8—1,9 единиц. Количество неорганического фосфора у молодых крыс также выше, чем у взрослых: у молодых 6—8 мг⁰%, у взрослых 4,5—7 мг⁰%.

Содержание фосфатазы, Р и Са у крыс с экспериментальным рахитом (в возрасте от 1½ до 2 месяцев с весом от 50 до 90 г).

№№ по пор.	Фосфатаза в единицах	Р мг ⁰ %	Са мг ⁰ %	№№ по пор.	Фосфатаза в единицах	Р мг ⁰ %	Са мг ⁰ %
1	5,4	4,3	10,4	18	6,2	3,8	10,2
2	6,1	5,7	9,9	19	4,9	4,6	9,3
3	4,8	4,1	12,1	20	5,4	4,4	12,1
4	3,2	5,1	10,8	21	4,8	3,1	10,8
5	5,6	4,9	11,5	22	4,1	4,1	10,3
6	2,8	3,2	8,2	23	5,6	4,3	11,6
7	4,1	5,4	—	24	5,8	3,4	13,1
8	4,5	4,2	11,8	25	4,7	5,1	10,4
9	6,1	3,1	13,7	26	3,7	3,2	13,5
10	5,1	4,5	10,4	27	5,8	2,8	10,4
11	3,9	3,6	12,5	28	4,9	3,3	13,5
12	3,1	4,8	10,4	29	3,4	4,3	10,7
13	5,1	4,4	12,5	30	2,8	5,1	9,6
14	4,6	4,9	10,3	31	5,6	3,1	10,8
15	6,3	5,4	9,8	32	5,9	2,8	13,4
16	5,3	4,8	10,2	33	2,9	4,6	11,6
17	5,6	5,1	11,4	34	4,7	3,8	9,7

Фосфатаза сыворотки у крыс с экспериментальным рахитом почти во всех случаях дает значительное увеличение активности, за исключением 3 животных у которых повышение количества фосфатазы незначительно (№ 6, 30 и 31). Гипофосфатемия имеет место во всех случаях рахита, но ясного параллелизма между увеличением фосфатазы и уменьшением количества неорганического фосфора отметить не удастся. Кальций сыворотки как у контрольных, так и у животных с экспериментальным рахитом не дает каких-либо изменений.

В заключение можно сказать, что при рахите имеется значительное и стойкое увеличение активности фосфатазы почти во всех случаях, что является несомненно важным диагностическим симптомом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лепский, Экспериментальный рахит, Казань, 1931. — 2. Лепский, Клин. мед., № 13, 1928. — 3. Юрьева Л., Каз. мед. журнал, № 9, 1938 — 4. Капланский, Минеральный обмен, Медгиз, 1938. — 5. Вомскоу, Zschr. physiol. chem Bd 210, 67, 1932.—6. Bodansky, J. biol. chem. vol 115, 101, 1936.—Crimm and Srauer, Journ, biol. chem., vol 112, 511, 1936.—Demuth, Biochem. Zschr., Bd 159, 415, 1925. — 9. Fabisch, Biochem. Zschr., Bd 254, 158, 1932. — 10. Neymann Zschr. f. kindneilkunde, Bd 49, 748, 1930. — 11. Он же, там же, ст 761.—12. Jacobsen, Biochem. Zschr. Bd 263, 312, 1933 — 13. N. Kay, Journ, biol. chem. vol. 87—217—1930.—14. Kay H., J. biol. chem vol. 112—235, 1936.—15. Kramer, j. biol chem. vol. 79—121 1928.—16. Он же, vol. 83—697, 1930.—17. Stearns. G. and Warweg, J. biol. chem vol. 102—749, 1933.

Поступила 16.VII 1939.