

М. И. АЛАВЕРДЯН, Л. С. ГАМБАРЯН, С. А. ЦАПОЯН

## К ВОПРОСУ О ПОСТРАДИАЦИОННЫХ ИЗМЕНЕНИЯХ ПРОНИЦАЕМОСТИ ТКАНЕЙ

Результаты классических наблюдений Н. Ф. Гамален [4, 5] и других исследователей, положивших начало изучению фермента гиалуронидазы и мукополисахарида гиалуроновой кислоты, явились основанием к пониманию тканевой проницаемости как процесса, неразрывно связанного с изменениями межтканевой соединительнотканной субстанции.

Согласно данным П. Н. Киселева с соавторами [7], выход гиалуроновой кислоты при облучении пупочных канатиков новорожденных всегда меньше (по сравнению с необлученными канатиками). Об аналогичных закономерностях свидетельствуют и другие работы П. Н. Киселева [10, 11]. Бак и Александер [3] полагают, что разрушение гиалуроновой кислоты в облученных тканях животного организма происходит опосредовано, вследствие высвобождения и активации тканевой гиалуронидазы. По мнению В. А. Разореновой [12], в механизме повышения проницаемости капилляров при лучевой болезни большую роль играет ферментно-субстратный комплекс — гиалуронидаза-гиалуронозная кислота. Согласно данным С. Р. Зубковой и И. С. Диденко [6], между повышением проницаемости тканей у крыс в ранние сроки после облучения и снижением уровня ингибитора гиалуронидазы в крови существует определенная корреляция.

Многие авторы утверждают, что самое раннее биохимическое изменение, наблюдаемое после облучения, состоит в повышении активности некоторых ферментных систем. Так, например, отмечено резкое (на 400%) повышение активности ферментов тотчас после облучения (Бак и Александер [3]). Описано пострадиационное повышение активности: триптофанпероксидазы-триптофаноксидазы, катепсина «С», щелочной фосфатазы, кислой фосфатазы, дегидрогеназы глюкозо-6-фосфата. Эти данные косвенно свидетельствуют о правомерности как результатов наших экспериментов, так и выводов исследователей, которые считают закономерным высвобождение из облученных тканей гиалуронидазы и ее активацию.

Исходя из этого, нами было подвергнуто экспериментальному изучению воздействие понижающего излучения (лучей Рентгена) на активность фермента гиалуронидазы и мукополисахарида гиалуроновой кислоты в пробирочных опытах и в экспериментах на животных.

В первой серии наблюдений (опыты *in vitro*) определялся характер влияния рентгеновых лучей на активность: 1) семенниковой гиалуронидазы нашего изготовления, 2) отечественного препарата гиалу-

ронидазного ряда — лидазы, 3) гиалуроновой кислоты (неочищенный белковой препарат, получаемый в нашей лаборатории из пупочных каптатиков новорожденных детей).

До и после облучения определялась активность гиалуроновой кислоты: 1) в реакции титрования рабочей дозы гиалуроната; 2) при помощи вискозиметра; 3) посредством использования смесителя для лейкоцитов. Активность гиалуронидазы определялась в реакции Мак Клина-Смирновой. С целью облучения было расфасовано и запаяно по 80 ампул фермента и гиалуроновой кислоты. Исходная относительная вязкость гиалуроновой кислоты составляла 3,8—4,0. Изменение вязкости растворов после облучения рентгеновыми лучами вычислялось по отношению к вязкости воды с помощью вискозиметра типа ВК-4. Гиалуронат и гиалуронидаза (лидаза) подвергались воздействию различных доз рентгеновых лучей (от 200 до 96 000 р). Облучение проводилось на рентгенотерапевтическом аппарате РУМ-11 при следующих технических условиях: напряжение тока—200 кв, сила тока—15 МА, мощность дозы—510 р/мин., кожно-фокусное расстояние—18 см без фильтров. Через 3 и 24 часа после облучения производилось повторное определение активности обоих препаратов и вязкости как облученных, так и контрольных растворов. Результаты опытов представлены в табл. 1 и 2. Отмечается прямая зависимость падения активности и уменьшения вязкости растворов гиалуроната от величины дозы рентгеновых лучей.

Таблица 1  
Влияние рентгеновых лучей на активность гиалуроновой кислоты в опытах *in vitro*  
(в реакции Мак Клина-Смирновой, сокращенно — РМКС)

Дозы облучения (в р)	Гиалуроновая кислота					Суммарная активность гиалуроновой кислоты (в клетках)
	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	
Гиалуроновая кислота до облучения	++++	++++	++++	+++	++	14 +
200	++++	++++	++++	+++	++	14 +
1500	++++	++++	++++	+++	++	13 +
3000	++++	++++	++++	+++	+	10 +
6000	++++	++++	++++	++	—	10 +
12000	++++	++++	++++	+	—	9 +
24000	+++	++	+	—	—	6 +
48000	+	+	—	—	—	3 +
96000	—	—	—	—	—	0 +

Примечание: (++++, ++++, ++, +, —) — различная степень активности препарата, (—) — препарат разрушен.

Если из сказанного следует, что облучение гиалуроновой кислоты рентгеновыми лучами в опытах *in vitro* разрушает ее, то фермент гиалуронидаза (согласно результатам наших наблюдений), наоборот, весьма устойчив к действию ионизирующей радиации и при облучении его в пробирке он почти совершенно не инактивируется. Эти данные подтвер-

Таблица 2

Влияние рентгеновых лучей на активность гиалуроновой кислоты:

1) РМКС, 2) вискозиметрия, 3) смеситель для лейкоцитов

Дозы облучения (в р)	Вязкость гиалуроновой кислоты			РМКС: суммарная активность гиалуроновой кислоты (в крестах)
	измерена смесителем для лейкоцитов (в сек.)	измерена вискозиметром		
		в мин.	коэффициент вязкости по сравнению с водой	
До облучения	27	3,8	5,6	14 -
200	27	3,6	5,6	14 +
1500	26	3,6	5,4	13 +
3000	25	3,5	5,2	10 +
6000	24	3,5	5,0	10 -
12000	20	3,4	4,8	9 -
24000	17	3,3	4,0	6 -
48000	14	2,7	3,4	3 -
96000	9	2,3	2,8	0 -

ждаются результатами наблюдений П. Н. Киселева, М. С. Могилевского, Л. С. Коган [11], Н. И. Арлащенко [1, 2].

В анализе причин разрушения различных соединительнотканых и мукопротеиновых субстанций при лучевой болезни одно из ведущих мест, как указывалось выше, отводится активации тканевых гиалуронидаз. Исходя из этого, во II серии наших наблюдений в опытах на животных, нами исследовалась гиалуронидазная активность экстрактов внутренних органов облученных (от 200 до 10 000 р) и необлученных крыс и мышей. В РМКС исследованы органы 15 необлученных и 25 облученных крыс и 33 необлученных и 132 облученных белых мышей. Животные облучались на рентгентерапевтическом аппарате РУМ-11, при следующих условиях: напряжение тока—187 кв, сила тока—15 МА, мощность дозы—510 р/мин., кожно-фокусное расстояние—40 см, без фильтров. Через 2 часа после облучения животные забивались и исследовались органы. Результаты этой серии опытов приведены в табл. 3.

Из данных табл. 3 вытекает ряд закономерностей. Во-первых, из общего числа исследованных органов (1884) в 395—обнаружена гиалуронидаза; это у облученных животных (21%). В контроле же, т. е. у необлученных животных этот показатель равен 9%. Следовательно, при облучении в органах животного резко повышается уровень гиалуронидазы. Это происходит, по-видимому, из-за разрушения тканей ионизирующими лучами.

Далее, из той же таблицы следует, что по ходу увеличения дозировки рентгеновых лучей возрастает также процент органов, в которых удастся обнаружить гиалуронидазу: при 200 р—12%, 600 р—18, 1000 р—17 и т. д., и, наконец, при 10 000 р—33%.

Касаясь вопроса о частоте обнаружения фермента в том или ином органе, мы можем отметить, что у необлученных животных только в тес-

Таблица 3

Влияние рентгеновых лучей на активность гиалуронидазы в органах крыс и мышей

Дозы облучения (в р)	Число животных	О р г а н ы											Суммарно по дозам облучения		
		печень	почки	селезенка	легкие	желудок	толстый кишечник	головной мозг	поджелудоч. железа	мышцы	сердце	кожа	яичко	количество	%
Необлученные животные	48	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	46	50/576	9
200	17	0	0	0	2	0	0	0	0	4	0	2	17	25/204	12
600	28	0	0	0	5	2	4	0	0	8	0	15	28	61/336	18
1000	32	0	0	0	6	2	3	0	0	9	0	14	32	16/384	17
2000	30	0	0	0	4	3	6	2	0	7	2	20	30	74/360	20
5000	31	0	0	2	6	4	7	7	2	12	14	25	25	94/372	25
10000	19	2	4	2	8	7	5	8	4	5	2	17	11	75/228	33
Суммарно по органам у облученных животных	157	2	4	4	31	18	25	17	6	45	8	92	143	395/1884	21
%		1	3	3	19	11	16	11	4	28	5	58	91		

Примечание: знаменатель — число исследованных органов, числитель — число органов, в которых обнаружена гиалуронидаза.

тикулах почти закономерно обнаруживается гиалуронидаза. Однако и после облучения на первом месте находятся тестикулы, затем следуют: кожа, мышцы, легкое, желудок и другие органы; меньше всего гиалуронидаза обнаруживается в печени, почках, селезенке, поджелудочной железе и в сердце.

Данные этой части наших экспериментов находят свое подтверждение в результатах исследований В. П. Шехонина [11], который изучил почти все те же органы у облученных кроликов, что и в наших опытах; дозы облучения также были близки (1000—12000 р.—у В. П. Шехонина и 200—10000—у нас). Этому исследователю у здоровых кроликов удалось обнаружить гиалуронидазу в 5 органах (толстый кишечник, яичко, мышцы, кожа, желудок), а нам только в двух — яичко и мышцы. По данным В. П. Шехонина, при облучении кроликов в дозе 12000 р гиалуронидаза была обнаружена в 11 органах из 13 (фермент не был обнаружен лишь в мозговой ткани и сердечной мышце). По нашим данным, у кроликов, облученных рентгеновыми лучами в дозе 10000 р, наличие гиалуронидазы было констатировано во всех 12 исследованиях нами органами, однако в печени, почках и селезенке фермент обнаруживался очень редко.

Вышеприведенный экспериментальный материал свидетельствует о том, что рентгеновые лучи, разрушающие ткань органов, приводят к высвобождению тканевых гиалуронидаз. Последние разрушают гиалуроно-

вую кислоту органов, что и приводит в значительной мере к повышению тканевой проницаемости; последнее обстоятельство не может не отразиться на физиологическом состоянии организма, что и находит свое частичное проявление в развитии не только сепсиса, но и геморрагического синдрома. Эти данные находят свое подтверждение в работах П. Н. Киселева [8, 9, 10], Л. С. Штери с соавторами [15], Е. П. Степанян с соавторами [13] и других исследователей.

В опытах *in vivo* нами был подвергнут экспериментальной разработке также и вопрос о закономерностях развития феномена Дюран-Рейнальса у облученных животных, подвергшихся (помимо лучей Рентгена) также воздействию гетерогенной гиалуронидазы. В доступной нам литературе подобных исследований мы не встретили. Сущность феномена Дюран-Рейнальса сводится к тому, что при внутривенном введении животным краски с гиалуронидазой зона диффузии красителя достигает больших размеров, чем при инъекции физиологического раствора. Опыты были поставлены на 28 кроликах обоего пола, весом от 2 до 2,5 кг. Животные были разбиты на две группы. Первая группа (24 животных) — опытная — кролики облучались на рентгенотерапевтическом аппарате РУМ-11 в дозе 800 р, однократно, тотально, при следующих условиях: напряжение тока — 187 кв, сила тока — 15 мА, мощность дозы — 30 р/мин., КФР — 30 см, фильтры — 0,5 мм меди + 1 мм алюминия, экспозиция — 21 минута. Вторая группа (4 кролика) — контрольная, без облучения. Подопытные животные были разделены на 6 групп, по 4 кролика в каждой. В I подгруппе инъекции производились через 1 сутки после облучения, во второй — через 3 суток, в III — через 8 суток, в IV — 16 суток, в V — 23 и в VI — через 30 суток после облучения. У всех 28 животных до опыта выстригалась шерсть на всем туловище. Затем животному строго внутривенно на 2 см ниже проекционной линии позвоночника иглой № 32 с правой стороны вводилась смесь 0,2 мл туши с 0,2 мл гиалуронидазы (препарат изготовлен в нашей лаборатории); слева производились аналогичные инъекции (симметрично с правой) смеси туши с физиологическим раствором. Всего на 1 кролике производилось 6 инъекций — 3 справа и 3 слева. За всеми животными (и контрольными, и опытными) устанавливалось наблюдение в течение 72 часов: через 1, 8, 24, 48 и 72 часа после производства инъекций измерялись зоны диффузии справа и слева: величина площади диффузии справа делилась на такую же слева — полученное число представляло собой, так называемый, индекс Клода. Измерение диффузионных зон производилось гнущейся линейкой, а площадь диффузии высчитывалась либо по формуле площади круга —  $S = \pi R^2$  ( $\pi = 3,14$ ;  $R$  — радиус круга), либо по формуле площади эллипса —  $S = \pi \frac{D \cdot d}{4}$  ( $D$  — большой,  $d$  — малый диаметры эллипса).

Итоговые данные настоящей работы приведены в табл. 4, из которой следует, что на всех изученных нами сроках постраднационного периода (на 1, 3, 8, 16, 23 и 30 сутки) наблюдается временная тенденция к

Приведенный в работе фактический материал свидетельствует о существовании в облученном организме большой зависимости между повышенным тканевой проницаемостью и физиологическим состоянием системы гиалуронидаза-гиалуроновая кислота. Из сказанного вытекает вывод, что как интерпретация патогенеза лучевой болезни, так и лечебно-профилактические мероприятия в указанной области должны проводиться с учетом особенностей вышеупомянутой биологической системы.

Сектор радиобиологии АМН СССР  
и Лаборатория нейробиологии  
Академии наук АрмССР

Поступило 18.VI 1965 г.

Ե. Բ. ԱՐԱՐԵՎՅԱՆ, Ը. Մ. ՂԱՍՏԱՐՅԱՆ, Ս. Ա. ՊԱՊՈՅԱՆ

**ՀՅՈՒՄԱՆԱԿԱՆ ԲՆԱԿԱՆՑԵԼԻՈՒԹՅԱՆ ՀԵՏԱՆՈՒԹՅԱՆ ԳՆԱՀԱՆՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԲԻՈՓԻՆՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐՋԸ**

**Ա Վ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ**

Հեղինակները փորձեր են կատարել ին vitro պայմաններում և կենդանիների վրա (մկներ, առնետնեյր և ճագարներ), նպատակ ունենալով ուսումնասիրել այն տեղաշարժերը, որոնք սկսվում են ճառագայթների ազդեցության ներքո հյուսվածքների թափանցելիության ասպարեզում տեղի են ունենում հիալուրոնիդազա-հիալուրոնաթթու բիոսինթեզային համակարգում՝ հետճառագայթային շրջանում առաջացած հետևանքների պատճառով:

Ապացուցված է, որ նշված համակարգը մեծ դեր է խաղում հյուսվածքների թափանցելիության հետճառագայթային փոփոխությունների զարգացման գործում. ուղիղակիորեն ճառագայթավորումը, ուղիղակիորեն (աղբյուր՝ հյուսվածքի հիալուրոնաթթվի վրա) և միջնորդաբար (նպատակով՝ հյուսվածքներում հիալուրոնիդազա ֆերմենտի անջատմանը և ակտիվացմանը) քայքայում է հյուսվածքային հիալուրոնաթթուն և դրանով իսկ նպաստում հյուսվածքների թափանցելիության բարձրացմանը: Հետևաբար, կարելի է ասել, որ հետճառագայթային բակտերիաթաշի և հեմոսպիկ սինդրոմի առաջացման մեխանիզմում, բացի այլ գործոններից, որոշակի դեր է խաղում նաև հիալուրոնիդազա-հիալուրոնաթթու ֆերմենտա-հյուսվածքային համակարգում լյուրը:

**Л И Т Е Р А Т У Р А**

1. Арлащенко Н. Н. Мед. радиол., 3, 29, 1956.
2. Арлащенко Н. Н. Мед. радиол., 5, 1, 42, 1960.
3. Бак З. и Александер П. В кн.: Основы радиобiol., М., 318, 371, 391, 1963.
4. Гамалея Н. Ф. Госпит. дело, 1—2, 22, 1946.
5. Гамалея Н. Ф. Госпит. дело, 1, 8, 1947.
6. Зубкова С. Р. и Диденко Н. С. В кн. Гистогематические барьеры и понижующая радиация, М., 114, 1963.
7. Киселев И. Н. Бюлл. эксп. биол. и мед., 29, 3, 215, 1950.
8. Киселев И. Н. Вестн. рентгенол. и радиол., 5, 3, 1953.
9. Киселев И. Н. Вopr. радиобiol., Медгиз, 71, 122, 1956.

10. Киселев П. И. *Вопр. радиобиол.*, Медгиз, Л., 210, 1956.
11. Киселев П. И., Могилевский М. С. и Коган Л. С. *Бюлл. эксп. биол. и мед.*, 3, 207, 1949.
12. Разоренова В. А. В кн. *Патол. физиол. острой лучевой болезни*. Медгиз, М., 273, 1958.
13. Степанян Е. П., Климов В. С., Горбаренко Н. И. *Вести. рентгенол. и радиол.*, 1, 18, 1957.
14. Шехонин В. П. *Вопр. рентгенол. и радиол.*, М., 10, 367, 1959.
15. Штерн Л. С., Рапповод С. Я. и Громиковская М. М. *Докл. АН СССР*, 126, 3, 699, 1959.