

цитов. В подгруппе больных с выраженно сниженным систолическим и диастолическим артериальным давлением и сниженной частотой сердечных сокращений усредненное значение времени гемолиза под действием обидана изменяется также статистически достоверно, чего нельзя сказать о подгруппе с невыраженным эффектом медикаментозного лечения. Такая же взаимосвязь обнаруживается при лечении кальциантами (изонитином или физоитином).

Таким образом, применение метода фазового анализа процесса гемолиза позволило получить новую информацию об индивидуальной чувствительности больных к данным группам препаратов. Особой вариабельностью характеризуются скорость кооперативной фазы и длительность процесса, в то время как классически определяемая величина гемолиза практически не изменяется. Мембрана эритроцитов человека лишена аденилатциклазы, так что мы имеем дело с неспецифическим действием бета-блокаторов на белки и липиды биомембраны. Причем эффект бета-блокатора проявляется только в процессе гемолиза, что, вероятно, связано с его проникновением в клетку в результате образовавшихся дефектов в мембранах. Действие Са-антагонистов выявляется лишь при предварительной инкубации, что дает дополнительную информацию для расшифровки механизма блокады входа ионов кальция в клетку.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Голощанко О. А.* Клиническая медицина, 8, 114—118, 1985.
2. *Агамалян А. Г., Мкртумян О. А.*, Тез. докл. 11-го съезда кардиологов Армении, 232—233, Ереван, 1986.
3. *Агамалян А. Г., Оганесян С. С.* Космическая биология, 6, 60—62, 1983.
4. *Адамян К. Г., Оганесян О. С., Агамалян А. Г., Саркисян М. А.* Определение кинетических параметров гемолиза крови и эритроцитов у больных методом непрерывной автоматической регистрации (методические рекомендации). Ереван, 1981.
5. *Godin D. V., Au T., Garnett M. E. J.* Molec. Cel. Cardiol., 11, 261—271, 1979.
6. *Seeman P.* Pharmac. Rev., 29, 583—655, 1972.
7. *Surewiż K. W., Fijałkowska I., Leyko W. J.* Biochem. Pharmacol., 30, № 8, 838—842, 1981.
8. *Dhalla N. S., Len S. L.* Br. J. Pharmacol., 57, 211—221, 1976.

Поступило 10.IV 1987 г.

ВЛИЯНИЕ ЭНДОТОКСИНА НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ И СУХУЮ МАССУ АЛЬВЕОЛЯРНЫХ КЛЕТОК КРЫС

Н. Г. ХАРЛАНОВА, Э. А. БАРДАХУБЯН

Ростовский государственный медицинский институт

В начальном периоде эндотоксического шока установлены два типа реакций пневмоцитов II типа, ответственных за выработку сурфактанта. В промежуточном периоде преобладающими являются выход ламеллярных телец в альвеолярное пространство и дистрофические изменения в пневмоцитах II типа. В пневмоцитах I типа развивается отек. По мере увеличения сроков эндотоксемии сухая масса сурфактантпродуцирующих кле-

тек уменьшается. Обсуждается роль рецепторов на мембранах пневмоцитов II типа в качестве патофизиологического фактора при эндотоксическом шоке.

Հնդոտորինային շնչման նախնական շրջանում II տիպի պնեմոցիտներում ի հայտ են գալիս կրկու ռակցիաներ, որոնք պատասխանատու են սուրֆակտանների մշակման համար: Իրիին շրջանում դիտվում է լամելյար մարմնիկների կը պվելայր տարածություն և դիսսուրֆիկ փոփոխություններ II տիպի պնեմոցիտներում: I տիպի պնեմոցիտներում ուռուցք է զարգանում: Հնդոտորինայի ժամկետների աճի շարժի նվազում է սուրֆակտանտ արտադրող բջիջների չոր մասան: Քննարկվում է սերվատորների դերը II տիպի պնեմոցիտների վրա որպես պարֆիզիոլոգիական գործոն Հնդոտորինային շնչման ժամանակ:

In the initial period of endotoxin shock two types of reactions take place in the alveolar type II cells, responsive for the working out of surfactant. In the intermediate period of endotoxin shock sharp diminishing of lamellar bodies in the surfactant producing cells, as well as developing of dystrophy in them is observed. In the alveolar type I cells there is an edema.

The dry mass of surfactant-producing cells decreases as much as increases the endotoxemia terms. The role of receptors on the membranes of pneumocytes of II type as a pathophysiological factor during endotoxin shock is discussed.

Ключевые слова: эндотоксин, пневмоциты, интерференционная микроскопия, электронная микроскопия.

Как известно, при развитии эндотоксического шока объектом действия липополисахарида являются клетки различных органов-мишеней, в том числе и легких [2—5]. Наиболее патогномичным признаком, характерным для шока, является шунтирование кровотока, достигающее 30—40% вместо 2—3% в норме, в результате чего большая часть альвеол вентилируется без адекватной перфузии [8].

Морфологические изменения клеток паренхимы легкого изучены недостаточно. Вместе с тем комплекс сложных патофизиологических отклонений, не имеющих четких специфических признаков и выражающийся в тяжелых расстройствах гемодинамики [13, 19] и гемокоагуляции [12], по-видимому, должен получать соответствующее структурное отражение. Цель настоящего исследования состояла в комплексном изучении клеток альвеолярного эпителия в различные периоды после введения эндотоксина (липолисахарида).

Материал и методика. Крысам вводили липополисахарид кишечной палочки в являющую вену в дозе 2 мг/100 г, что соответствует LE_{50} [16]. Через 30 мин (инициальный период шока; 10 крыс) и 5 ч после инъекции (промежуточный период шока; 10 крыс) животных умерщвляли летальной дозой нембутала. В контрольных экспериментах (по 3 в каждой группе) вводили стерильный физиологический раствор.

Кусочки легких после глутаросмиевой фиксации и обезжиривания заключали в смолу. Срезы, полученные на ультрамикротоме LKB 8800, контрастировали на сетках уранилацетатом и пикратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM-100 S.

Для интерферометрических исследований из кусочков легкого, изытого у крыс в стадии глубокого нембуталового наркоза, на обезжиренных стеклах готовили мазки-отпечатки, которые высушивали на воздухе и фиксировали в течение 3—5 мин в абсолютном метиловом спирте. Определение сухой массы альвеолярных клеток II типа (по 100 клеток с каждого животного) проводили на интерференционном микроскопе PERAVE Interfaco (Carl Zeiss, Jena) в котором используются интерференцион-

ная система Маха-Цендера, обеспечивающая точность измерения до 0,002 длины световой волны. Использовался метод интерференционного контраста при монохроматическом освещении (интерференционный светофильтр $\lambda_{\text{чист.}} = 551 \text{ нм}$) по принципу расщепления изображения с полупрозрачной пластинкой и использовавшем осветительной решетке и объективами $25 \times 0,50$ и $50 \times 0,80$. Расчет оптической разности хода определяли по Бареру [11]. сухой вес клеток, заключенных в безводный глицирин, вычисляли по формуле Бенке [7].

$$M = \frac{\Delta d \cdot s}{100\alpha}$$

где M — сухая масса клетки (г), Δd — оптическая разность хода лучей (см), S — площадь клетки (см²), α — удельное приращение показателя преломления (см²·г⁻¹). Площадь клеток измеряли с помощью объект-микрометра и окулярной измерительной пластинки.

Данные количественных исследований обработаны статистически с применением критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Эпителий респираторного отдела легких контрольных животных представлен в основном клетками двух типов: малыми и большими пневмоцитами (или, соответственно, альвеолярными клетками I и II типов). Пневмоциты I типа принимают активное участие в газообмене, а также выполняют покровную и защитную функции; пневмоциты II типа обеспечивают образование сурфактанта. При электронно-микроскопическом изучении легких животных, получавших физиологический раствор, изменения в эпителиальных клетках обоих типов отсутствуют даже спустя 5 ч после инъекции.

В инициальном периоде эндотоксического шока (через 30 мин) развивается отек пневмоцитов I типа, обычно завершающийся транспортом жидкости в просветы альвеол. Что касается реакции пневмоцитов II типа, то она идет в двух направлениях. В меньшей части клеток наблюдается преобладание процессов синтеза сурфактанта над его утилизацией (рис. 1а), хотя в основной массе пневмоцитов II типа имеет место выход ламеллярных телец. При этом на их месте в цитоплазме остаются электроннопрозрачные профили (рис. 1б), а в альвеолярных пространствах видны элементы разрушенного сурфактанта в виде сеточек (рис. 1в).

Редукция сурфактанта способствует дополнительному повышению проницаемости аэро-гематического барьера. Интересно, что отек легких сопровождается опустошением липидсодержащих пневмоцитов II типа и появлением фосфолипидов в отечной жидкости [7].

В промежуточном периоде эндотоксического шока (через 5 ч) наблюдается дальнейшее прогрессирование ультраструктурных нарушений в клетках альвеолярного эпителия обоих типов. Особенно выраженные повреждения имеют место в пневмоцитах II типа, где прослеживается определенная последовательность альтераций. В первую очередь подвергаются клатматозу микроворсинки, аникальная плазмолемма обвисает и лабилизируется, благодаря чему создаются условия для выхода ламеллярных телец в альвеолярное пространство (рис. 2). Одновременно набухают митохондрии и расширяются каналы цитоплазматической сети, что указывает на развитие вакуольной дистрофии

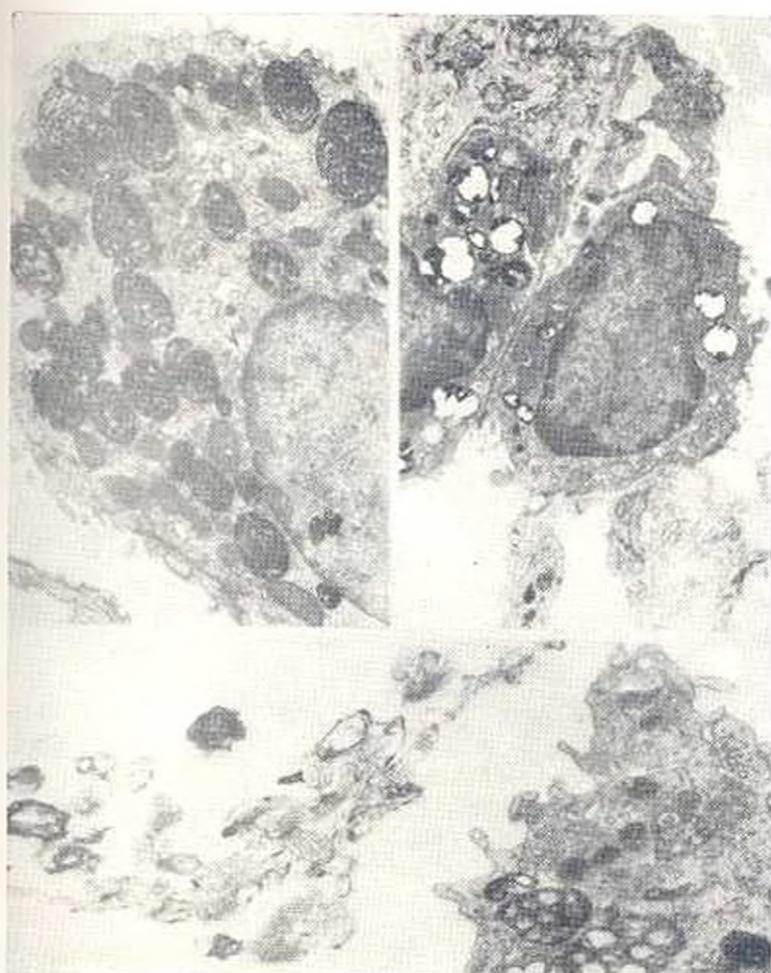


Рис. 1. Ультраструктура легких в начальном периоде эндотоксического шока. а—повышение многочисленных ламеллярных тел в цитоплазме пневмоцита II типа. Увел. 70000; б—опухание пневмоцитов II типа и образование вакуолей на месте ламеллярных тел. Увел. 7000; в—выход разрушенного сурфактанта в альвеолярное пространство. Увел. 10000.



Рис. 2. Ультрасструктура легкого в функциональном периоде антропогенной эпохи. Набухание митохондрий, расширение канальцев цитоплазматической сети, выход ламеллярных телец в альвеолярное пространство. Увел. 7000.

(рис. 2). Хотя считается, что этот процесс обратим, тем не менее в промежуточном периоде шока отдельные пневмоциты II типа погибают и сливаются в просветы альвеол.

При интерферометрическом изучении сухой массы пневмоцитов II типа выявлена корреляция с результатами электронно-микроскопических исследований. В частности, в инициальном периоде эндотоксического шока также регистрируются две тенденции в количественных сдвигах сухой массы сурфактантпродуцирующих клеток. Хотя в среднем сухая масса пневмоцитов и остается такой же, как и в контроле (таблица), однако в цитоплазме, в зависимости от преобладания процессов синтеза или выброса ламеллярных телец, а также степени выраженности дистрофии, она может изменяться в сторону увеличения или уменьшения. Сдвиг сухой массы цитоплазмы происходит не за счет изменения объема клетки, а за счет изменения концентрации плотного содержания в ней, причем колебания концентрации находятся в пределах 0,4—0,73 г/мгк³ ($P < 0,05$). В то же время сухая масса ядра нарастает преимущественно в результате увеличения его объема ($P < 0,01$).

В промежуточном периоде эндотоксического шока сухая масса и концентрация плотного содержания в пневмоцитах II типа уменьшаются на 29,4 и 31,6% соответственно ($P < 0,05$). Причем сухая масса цитоплазмы уменьшается на 35,1% ($P < 0,05$), а концентрация — на 44,9% ($P < 0,001$), что свидетельствует об интенсивном расходовании сурфактанта и дальнейшем прогрессировании явлений дистрофии. Одновременно происходит уменьшение сухой массы ядра на 22,8% ($P < 0,05$) и концентрации плотного содержания на 19,1% ($P < 0,001$).

Таким образом, в наших исследованиях обнаружены выраженные электронно-микроскопические повреждения пневмоцитов обоих типов, нарастающие по мере увеличения сроков эндотоксемии. Данные, полученные при интерферометрии сурфактантпродуцирующих клеток, коррелируют с результатами ультраструктурных наблюдений.

В последние годы успешно развивается новое направление, связанное с изучением мембранных рецепторов при контакте их с различными лигандами (и токсинами микроорганизмов в том числе) [9, 14]. Ранее нами было установлено, что при эндотоксическом шоке вследствие повышения проницаемости гемато-энцефалического барьера липополисахарид проникает в ткань мозга и в нейронах сенсорной коры индуцирует опосредованный рецепторами эндотоксоз [9]. Эти и некоторые другие взаимоотношения эндотоксемии с рецепторами уже рассматривались [2].

Что касается рецепторов пневмоцитов II типа, то на их поверхности имеются не только участки, чувствительные к молекулам липополисахарида, но и к эндогенным и экзогенным эндорфинам, энкефалинам, пептидам и т. д. [10, 17, 20].

Особый интерес представляет тот факт, что после введения эндотоксина у экспериментальных животных значительно повышается содержание бета-эндорфина — опиата, даже в малых дозах снижающего артериальное давление и оказывающего пульмоно- и кардиодепрессивное

Концентрация и содержание плотных веществ (сухая масса) в пневмонитах II типа крыс в норме и при эндотоксическом шоке

	Пневмониты II типа		Пневмониты		Контроль	
	сухая масса, мг	% к контролю	сухая масса	% к контролю	сухая масса, мг	% к контролю
Концентрация	306.4 ± 19.6	0.79 ± 0.03	201.3 ± 16.2	0.69 ± 0.03	110.4 ± 11.9	1.22 ± 0.03
Инициальная стадия эндотоксического шока (30 мин)	337.8 ± 16.9	0.74 ± 0.024	193.2 ± 17.8	0.60 ± 0.03	130.2 ± 8.4	1.29 ± 0.05
Промежуточная стадия эндотоксического шока (5 ч)	216.2 ± 11.8	0.54 ± 0.023	135.9 ± 10.8	0.38 ± 0.02	84.9 ± 6.7	1.0 ± 0.03

действии [15, 17]. Если раньше предполагалось, что опиатные рецепторы встречаются только в нервной ткани [18], то в дальнейшем оказалось, что они обнаруживаются также экстрацеребрально, например, в легких [17, 20].

В свете обсуждаемой проблемы значительный интерес представляет то, что опиатные рецепторы идентифицированы также в пневмоцитах II типа [20]. В этой связи становится понятной роль эндорфинов в качестве патофизиологического фактора при эндотоксическом шоке [15] и терапевтически эффект при этом налоксона, блокирующего опиатные рецепторы [15, 17]. Хотя препарат не оказывает влияния на давление в легочной артерии, зато в значительной степени снижает легочную сосудистую резистентность и повышает сердечный выброс и среднее артериальное давление [21]. В свою очередь, уменьшение легочной сосудистой резистентности улучшает кровообращение в системе малого круга, благодаря чему снижается шунтирование кровотока и вследствие этого нормализуется насыщение тканей кислородом и ингибируется лактацидемия [17].

Кроме того, для нас особенно важно то, что эндотоксины могут оказывать непосредственное повреждающее действие на легкие. Доказательства были получены на изолированных пневмоцитах II типа и изолированных из них плазматических мембранах при добавлении к ним меченого липополисахарида [10]. Оказалось, что при этом возникают дилатации, сходные с теми, которые наблюдаются *in vivo*.

Следовательно, сложные механизмы формирования острой легочной недостаточности при эндотоксическом шоке должны включать также элементы прямого повреждающего действия самого эндотоксина. По-видимому, они суммируются с эффектами других биологически активных веществ, выделяющихся при активации клеточных и гуморальных медиаторных систем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бардахчян Э. А. Пат. физиол., 6, 76—82, 1985.
2. Бардахчян Э. А., Черепанов Ю. П. Журн. эксп. и клин. мед., 18, 6, 26—33, 1973.
3. Бардахчян Э. А., Гардеева-Гавришкова Т. В. Цитология и генетика, 12, 3, 1978.
4. Бардахчян Э. А., Бочков Н. Н., Никулин О. В., Кириченко Ю. Г. Кровообращение, 15, 3, 3—9, 1982.
5. Бардахчян Э. А., Кириченко Ю. Г. Бюлл. экп. биол. мед., 102, 7, 97—100, 1985.
6. Бенке Г. В кн.: Введение в количественную цитохимию. М., 70—92, 1969.
7. Князева Г. П., Морозова М. М. Арх. пат., 54, 4, 47—52, 1972.
8. Пермяков Н. К. Арх. пат., 45, 12, 3—13, 1983.
9. Повилайтис П. Э., Бардахчян Э. А., Вилков Г. А. Цитология и генетика, 20, 5, 323—326, 1986.
10. Araci F. M., Bosch M. A., Municio A. M. Mol. Cell. Biochem., 68, 1, 59—66, 1985.
11. Barer P. Nature, 172, 12, 1097—1098, 1953.
12. Beller F. K. Clin. Obstet. Gynecol., 28, 1, 16—12, 1985.
13. Coalson J. J. Surg., Gynecol., Obstet., 135, 9, 908—912, 1972.
14. Dautry-Varsat A., Lodish H. F. Sci. Amer., 259, 5, 48—51, 1981.
15. Faden A. I., Holaday J. W. Infect. Dis., 112, 2, 229—238, 1986.
16. Ishiyama S., Iwat S. Asian Med. J., 19, 4, 268—297, 1976.

17. *Mamazza J., Hinchev E. J., Chiu R. C.*—J. Surg. Res., 36, 6, 623—630, 1984.
18. *Poti C. B., Snyder S. H.* Science, 179, 1011—1014, 1973.
19. *Takekawa K., Sakaiishi N., Tsunoda Y.* Bull. Tokyo Med. Dent. Univ., 30, 3, 55—61, 1983.
20. *Tang J., Chou J., Zhang A. Z.* Life Sci., 32, 21, 2371—2377, 1983.
21. *Weisglass I. S.* In: Advance in shock research, New York: Alan. R. Liss Inc., 1983, 3—87, 1983.

Поступило 21 VI 1987 г.

Биолог. ж. АрмССР, т. 41, № 1, 56—61, 1988

УДК 550.7.577.17.019.631.465

ДЕЙСТВИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА РОСТ ПРОРОСТКОВ НЕКОТОРЫХ с-х КУЛЬТУР

К. В. ГРИГОРЯН, Г. М. КАРАКЕШИШЯН

Ереванский государственный университет, кафедра экологии и охраны природы

Установлено, что проростки различных культур проявляют неодинаковую устойчивость к тяжелым металлам. Медь значительно токсичнее цинка, молибдена и свинца. Обнаружена отрицательная коррелятивная связь между содержанием тяжелых металлов в питательном растворе и показателями роста проростков.

Տարբեր հուշտուրաների ծիրեր ոչ միատեսակ կայունություն են ցուցաբերում ծանր մետաղների նաեղեպ: Պղնձը ավելի թունավոր է, քան մյուս ծանր մետաղները՝ ջինկը, մոլիբդենը, կապարը: Աննդարար լուծույթում ծանր մետաղների պարունակության և ծիրերի մեջ ցուցանիշների միջև հայտնաբերվել է փոխադրական բացասական կորրելատիվություն:

It has been established that the shoots of different crops exhibit non-identical stability to heavy metals. Copper is much more toxic than other heavy metals such as zinc, molybdenum and lead. Negative correlative connection between the contents of heavy metals in the nutrient solution and the indices of shoots growth has been revealed.

Ключевые слова: тяжелые металлы, рост проростков, индекс устойчивости.

Вносимые в почву тяжелые металлы в основном поступают в организм человека по биологическим цепям почва—растение—человек, почва—растение—животное—человек, почва—атмосферный воздух—растение—человек и др. [3]. Поэтому при нормировании уровня вредных веществ в почве возникает необходимость изучения их влияния на экосистему в целом и ее отдельные компоненты. В условиях АрмССР нами были получены данные о влиянии тяжелых металлов на состав и свойства почвы, их ферментативную активность, питательный режим и на содержание этих элементов в некоторых сельскохозяйственных культурах. Разработаны градации степени загрязненности почв тяжелыми металлами по активности ферментов: инвертазы и фосфатазы [1, 2]. Однако для подбора индикаторного тест-растения и разработки ПДК тяжелых металлов в почве необходимо в экстремальных условиях изучить также их влияние на показатели роста проростков отдельных культур. Это позволит установить устойчивость отдельных культур к влия-