

4. Виноградов А. Ф., Крылов В. И., Жмуров В. А. и др. Педиатрия, 1978, 11, стр. 82.
5. Калмыкова В. И. Автореф. докт. дисс. М., 1978.
6. Қарағезян К. Г., Овсепян Л. М. и др. Вopr. мед. химии, 1978, 1, стр. 73.
7. Қоган А. Х., Қудрин А. И., Струков А. В. кн.: Механизмы повреждения, резистентности, адаптации и компенсации, т. 1, Ташкент, 1976, стр. 79.
8. Куликов В. Ю., Казначеев В. П. и др. В кн.: Свободнорадикальное окисление липидов в норме и патологии. М., 1976, стр. 105.
9. Мхитарян В. Г., Агаджанов М. И. и др. В кн.: III Всесоюзный биохим. съезд. Рефераты научн. сообщений. Рига, 1974, 1, стр. 242.
10. Gajdos A. Nouv. Presse Med., 1972, 2, 2405.
11. Limber G. R., Davie R. F. Blood, 1970, 36, 111.
12. Lowry O. H., Rosenbrough N. I. Biol. Chem., 1951, 193, 265.
13. Nishikimi M., Rao N. A. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1972, 46, 2, 849.
14. Duggan D. D. Arch. Biochem. Biophys., 84, 116.

УДК 616.981.49:615.282

И. Х. ТОРДЖЯН, К. О. ОВНАНЯН, Г. Б. ГУКАСЯН

ВЛИЯНИЕ СУБТОРМОЗЯЩИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ АНТИБИОТИКОВ С РАЗЛИЧНЫМ МЕХАНИЗМОМ ДЕЙСТВИЯ НА СУБМИКРОСКОПИЧЕСКУЮ СТРУКТУРУ САЛМОНЕЛЛ

Изучено действие субтормозящих концентраций антибиотиков, нарушающих синтез мукопептидов клеточной стенки (пенициллин, ампициллин), синтез белка (мономицин, стрептомицин), обмен ДНК (невиграмон) на субмикроскопическую структуру салмонелл *in vitro*.

Показано, что изменения, вызываемые указанной группой антибиотиков, различаются по точке приложения и первичному эффекту, однако в итоге приводят бактерии к образованию атипичных Л-вариантных форм.

К настоящему времени в литературе накопилось большое количество исследований, посвященных ультраструктурным изменениям бактерий под воздействием антибиотиков [2, 3, 6—9]. Однако многие вопросы, связанные с характером ультраструктурных изменений бактерий, в частности салмонелл, под действием антибиотиков остаются недостаточно изученными.

Целью данной работы явилось выяснение характера изменений в ультраструктурной организации клеток салмонелл под влиянием субтормозящих концентраций антибиотиков с различным механизмом действия.

Для исследования были подобраны антибиотики со следующим механизмом действия: нарушающие синтез мукопептидов клеточной стенки бактерий—бензилпенициллин, ампициллин; нарушающие синтез белка на уровне 30-S субъединиц рибосом—мономицин, стрептомицин; нарушающие обмен ДНК, избирательно подавляя синтез,—невиграмон. Из изученных антибиотиков мономицин, ампициллин и невиграмон применяются при химиотерапии заболеваний салмонеллезной этиологии.

В эксперименте *in vitro* использовали выделенные от больных штаммы *S. typhi* 4, 5, 51, 78, 799, 925 и *S. typhimurium* 41, 318, 344, 546, 1119, 1272, 1296, типичные по морфологическим и культуральным свойствам.

Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) антибиотиков определяли методом серийных разведений на твердой питательной сре-

де. Для исследования в электронном микроскопе 18-часовую испытываемую культуру засевали на чашки с мясо-пептонным агаром, содержащим 1/2—1/4 МПК антибиотика. Через 18 часов культуру фиксировали 1% фиксатором глутарового альдегида, дофиксировали 1% фиксатором OSO_4 , обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации и в абсолютном ацетоне, заключали в метакрилаты и дюркупан (АСМ Fluka).

Ультратонкие срезы изготовляли на отечественном ультрамикротоме УМТП-2, контрастировали 5% раствором уксуснокислого уранила. Препараты просматривали и фотографировали на отечественном электронном микроскопе УЭМВ-100 В при инструментальном увеличении $\times 30000$.

Субмикроскопическое строение клеток *S. typhi* и *S. typhimurium*, не подвергавшихся экспериментальному воздействию, типично для грамотрицательных бактерий и описано ранее [1, 6]. На ультратонких срезах клетки изученных штаммов имели одинаковое строение. Снаружи расположена извилистая мембрана клеточной стенки, к которой изнутри прилегает цитоплазматическая мембрана. Мембранные структуры имеют простое строение и представлены в основном петлеобразными инвагинатами цитоплазматической мембраны. Цитоплазма гранулярная, иногда содержит включения средней и низкой электроннооптической плотности, имеющие мелкозернистое строение. Нуклеоид представлен осмиефобными зонами, заполненными фибриллами ДНК (рис. 1а).

После 18-часового роста салмонелл на средах, содержащих 1/2 МПК изученных антибиотиков (пенициллин, ампициллин, мономицин, невигамон, стрептомицин), в ультратонких срезах всех испытуемых штаммов, по сравнению с контролем, наблюдался выраженный гетероморфизм клеток в пределах одной популяции. По морфологическим признакам их можно классифицировать следующим образом: клетки без видимых морфологических изменений; клетки, имеющие длину, в 5—10 раз превышающую размеры контрольных; клетки с частично или полностью отставшей клеточной стенкой; клетки, полностью лишенные клеточной стенки: клетки, утратившие гранулярный компонент цитоплазмы, сохранившие только мембранные структуры.

Клетки, не имеющие видимых морфологических изменений, встречались при действии всех изученных нами групп антибиотиков. Они имели обычные размеры, извилистую клеточную стенку, плотно прилегающую к цитоплазматической мембране. Рибосомальный компонент и нити нуклеоида неразличимы из-за высокой плотности цитоплазмы. Следует отметить, что такие клетки наблюдались и в срезах контрольных препаратов.

Клетки, имеющие длину, в 5—10 раз превышающую размеры контрольных, наблюдались преимущественно под действием антибиотиков пенициллиновой группы, мономицина и невигамона (рис. 1б). Это так называемые нитчатые формы, которые образуются в результате «несбалансированного» роста, когда при сохранившейся способности клеток к росту нарушена функция деления. Так, антибиотики пеницилли-

новой группы тормозят деление, нарушая непосредственно синтез мукопептидов клеточной стенки, невидимом—подавлением синтеза ДНК, действие мономицина может быть опосредовано через ингибицию синтеза белка.



Рис. 1. Действие субтормозящих концентраций антибиотиков на субмикроскопическую структуру клеток салмонелл. а—*S. typhi*, шт. 44, контроль, ув. 60 000; б—*S. typhimurium*, шт. 41, действие ампицилина, ув. 32 000; в—*S. typhi*, шт. 925, действие ампицилина, ув. 40 000; г—*S. typhi*, шт. 4, действие пенициллина, стрелками указаны элементарные тельца в вакуолях, ув. 90 000. д—*S. typhi*, шт. 799, действие мономицина, ув. 60 000. Условные обозначения: кс—клеточная стенка; цпм—цитоплазматическая мембрана; гк—гранулярный компонент; в—вакуоль; нф—нитчатая форма; с—сфероласт; бт—большое тело.

Клетки с отставшей клеточной стенкой или сферопласты (рис. 1 в, 2 а) также имеют различный механизм образования. Под действием антибиотиков ампициллина и пенициллина они появляются в результате того, что нарушение синтеза мукопептидного слоя, расположенного между клеточной стенкой и цитоплазматической мембраной, приводит к разобщению связей между последними, вызывая отхождение мембраны клеточной стенки.

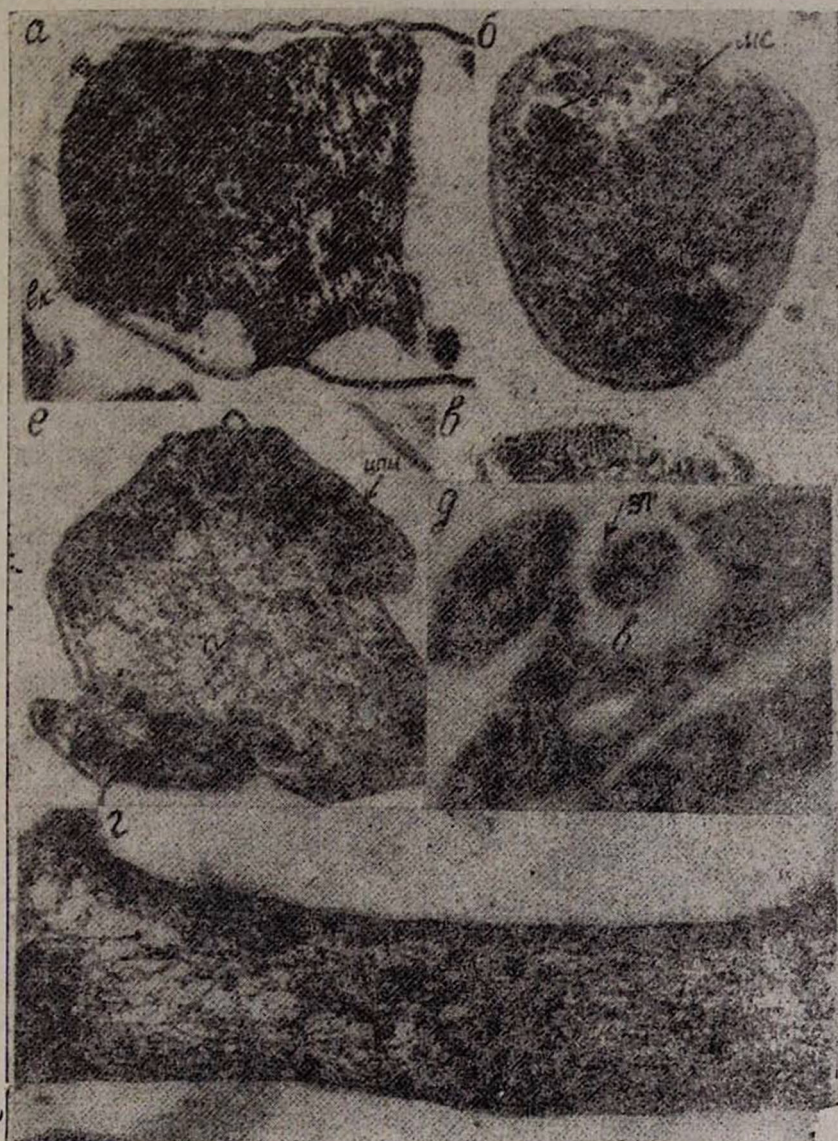


Рис. 2. Действие субтормозящих концентраций антибиотиков на субмикроскопическую структуру салмонелл. а—*S. typhi*, шт. 799, действие мономицина, ув. 90 000; б—*S. typhi*, шт. 78, действие стрептомицина, ув. 120 000; в, д—*S. typhimurium*, шт. 1119, действие невидграмона, ув. 120 000, 64 000 соотв.; е—*S. typhimurium*, шт. 546, действие невидграмона, ув. 60 000. Условные обозначения: н—нуклеонд; мвк—мелкозернистые включения; мс—мембранные структуры; п—протопласт. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

Образование сферопластов при действии стрептомицина и мономицина является, вероятней всего, результатом потери клеткой части цитоплазмы, которая происходит следующим образом. В популяции клеток, подвергнутых действию указанных антибиотиков, можно наблюдать особи с многочисленными мелкими или единичными крупными вакуолями (рис. 1 д, 1 в, 2 б), содержащими разреженный рибосомальный компонент. Там же часто располагаются элементарные тела различной величины и мембранные структуры. Содержимое вакуоли выходит в периплазматическое пространство и через дефект клеточной стенки—в среду (рис. 1 г, 1 в). В дальнейшем эти экскретирующие клетки превращаются в сферопласты (рис. 2 а), а с полной утратой остатков клеточной стенки—в протопласты (рис. 2 е).

Формы клеток без клеточной стенки или протопласты различаются по форме, величине и внутренней структуре. Крупные формы, которые соразмерны или превышают величину исходных клеток и содержат все структурные компоненты клетки, кроме мембраны клеточной стенки, можно определить как клетки протопластического типа (рис. 2 а). Такие клетки могут иметь плотную цитоплазму и обычную вытянутую форму, однако чаще они имеют круглую или неправильную форму, разреженную цитоплазму и обширную зону нуклеоида. Образование форм, лишенных клеточной стенки, часто наблюдается внутри цитоплазмы. Такие формы имеют размеры, составляющие $1/2$ — $1/5$ величины исходных особей на срезе, представляющие собой участок цитоплазмы, ограниченный элементарной мембраной и заключенный в вакуоль. Такие внутрицитоплазматические образования принято называть элементарными тельцами. В вакуоли может находиться одно и более таких образований различной величины (рис. 1 г, 2 а, б), которые затем выходят из клетки путем нарушения целостности цитоплазматической мембраны и клеточной стенки. После выхода из клетки они начинают самостоятельное существование истинных протопластических форм, лишенных каких бы то ни было следов клеточной стенки. Следует заметить, что элементарные тельца обычно образуются при сублетальных воздействиях на бактериальные клетки [6], нами же они наблюдались также и в 48-часовой культуре шигелл [5].

Наряду с описанными формами в популяции встречаются клетки, подвергнутые полной деструкции, сохранившие только клеточные мембраны (рис. 1 б).

Кроме общих, имеются также специфические изменения структур, наблюдаемые при действии отдельных антибиотиков. Это образование больших тел под действием ампициллина и пенициллина (рис. 1 б); выраженная агломерация нитей ДНК под действием налидиксовой кислоты (невиграмон, рис. 2 г); образование мембранных структур, напоминающих отпечатки пальцев, под действием мономицина и стрептомицина (рис. 2 в); образование внутрицитоплазматических мембран, структур, не свойственных грамотрицательным бактериям, и увеличение числа и размеров включений низкой электроннооптической плотности, имеющих мелкозернистое строение, под действием мономицина (рис. 2 а).

Таким образом, как показали наши исследования, субтормозащие концентрации изученных нами групп антибиотиков, различающихся по механизму действия, вызывают в субмикроскопической структуре салмонелл изменения, которые различаются по точке приложения и первичному эффекту, способные в итоге приводить бактерии к образованию атипичных Л-вариантных форм в виде нитчатых клеток, сферопластов, протопластов и элементарных тел.

НИИ эпидемиологии и мед. паразитологии
им. А. Б. Алексаняна

Поступила 10/X 1981 г.

Ի. Խ. ԹՈՐՅԱՆ, Կ. Օ. ՀՈՎՆԱՆՅԱՆ, Գ. Բ. ՂՈՒԿԱՍՅԱՆ

ՏԱՐԲԵՐ ԱԶԴՄԱՆ ՄԵԽԱՆԻԶՄՈՎ ՀԱԿԱՐԻՈՏԻԿՆԵՐԻ ԵՆԹԱՐԳԵԼԱԿԻԶ ԿՈՆՑԵՆՏՐԱՑԻԱՆԵՐԻ ԱԶԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՍԱԼՄՈՆԵԼԱՆԵՐԻ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԻ ՎՐԱ

Ուսումնասիրվել են սալմոնելաների ուլտրակառուցվածքային փոփոխությունները մի շարք հակաբիոտիկների ենթարգելակիչ կոնցենտրացիաների ազդեցության տակ: Հեպտադոստոկան համար ընտրվել են երեք խումբ հակաբիոտիկների, որոնք խախտում են բջջապատի մոկոպեպտիդների սինթեզը (պենիցիլին, ամպիցիլին), սպիտակուցի սինթեզը (մոնոմիցին, ստրեպտոմիցին) և դեզօքսիթիոնոկլեաթիլի փոխանակությունը (նեվիդրամոն):

Ինչպես ցույց տվեցին մեր հետազոտությունների արդյունքները, սալմոնելաների մոտ ուսումնասիրված հակաբիոտիկների կողմից առաջացված փոփոխությունները տարբերվում են միմյանցից իրենց առաջացված փոփոխությունները տարբերվում են միմյանցից իրենց առաջացված փոփոխությունները: Սակայն այդ հակաբիոտիկներին բնորոշ է սալմոնելաների մոտ ոչ տիպիկ L-ձևեր (թելանման, սֆերոպլաստներ, պրոտոպլաստներ, էլեմենտար մարմնիկներ) առաջացնելու հատկությունը:

I. Kh. TORJYAN, K. O. HOVNANIAN, G. B. GHOUKASSIAN

EFFECTS OF SUBINHIBITORY CONCENTRATIONS OF ANTIBIOTICS ON SUBMICROSCOPIC STRUCTURE OF SALMONELLA

The authors have studied the structural changes induced by sublethal concentrations ($1/2$ MIC) of penicillin, ampicillin, monomicin and nalidixic acid on strains of *S. typhi* or *S. typhimurium*. It is shown that the studied antibiotics produce atypic variant forms—filaments, spheroplasts, protoplasts and elementary bodies.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Авакян А. А., Қац Л. Н., Павлова И. Б. Атлас анатомии бактерий, патогенных для человека и животных. М., 1972.
2. Қац Л. Н., Рокистро Т., Вайнтрауб Э. А. Антибиотики, 1970, 4, стр. 312.
3. Қац Л. Н., Андреева А. М., Мороз А. Ф. Антибиотики, 1968, 9, стр. 841.
4. Овнанян К. О., Торджян И. Х. В кн.: Вопросы профилактики инфекционных заболеваний, Ереван, 1972, стр. 38.
5. Тимаков В. Д., Каган Г. Я. Л-формы бактерий и семейство Mycoplasmataceae в патологии. М., 1973.

6. Торджян И. Х. Антибиотики, 1976, 9, стр. 775.
7. Торджян И. Х., Гукасян Г. Б. В кн.: Эпидемиология и профилактика кишечных инфекций. Таллин, 1978.
8. Lorian V., Kolke M., Zak O., Zanon U., Sabath L. D., Grassl G. G., Stille W. Current Chemotherapy, 1978, 72.
9. Lorian V., Alkinson B. and Ewing W. Am. J. Clin Pathol., 1976, 66, 1004.

УДК 616.155.392--036.11+616.155.392.8—036.12

А. С. ПОГОСЯН, Г. Т. БЛЕЯН, Э. Н. ЕОЛАН, М. А. СТЕПАНЯН,
Л. Б. МУРАДЯН, З. Х. ПАРТЕВ, Ю. О. АЛЕКСАНДРОВ, Р. А. БАБАЯН,
Д. С. АЙДИНЯН, Л. О. АБРАМЯН

КОМПЛЕКСНОЕ ИЗУЧЕНИЕ КОАГУЛОГРАММЫ, КИНИНОВОЙ СИСТЕМЫ, МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ И ТРОМБОЦИТОПОЭЗА ПРИ ОСТРОМ ЛЕЙКОЗЕ И ХРОНИЧЕСКОМ МИЕЛОЛЕЙКОЗЕ

Изучены изменения микроциркуляции кининовой и свертывающей систем крови и тромбоцитопоэза у больных острым лейкозом и хроническим миелолейкозом и лечебное действие антикининового препарата пармидина и аминокaproновой кислоты при геморрагических проявлениях у этих больных.

При тяжелых геморрагических проявлениях в комплексном лечении рекомендуется, кроме аминокaproновой кислоты, антикининовый препарат продектин или отечественный пармидин (пиридинолкарбамат).

Нашими предыдущими исследованиями установлено; что при остром лейкозе и хроническом миелолейкозе, особенно при геморрагических формах, активизируется кининовая система крови [1, 2].

Исходя из этого, мы задались целью при лейкозах с геморрагическими проявлениями изучить микроциркуляцию с калликреин-кининовой, а также с свертывающей системой крови для выяснения состояния и взаимоотношений этих систем. Одновременно мы преследовали цель установить, какое значение имеет активация кининовой системы крови в патогенезе геморрагических проявлений острого лейкоза и хронического миелолейкоза для целенаправленной коррекции гемостаза с помощью антикининовых препаратов.

Микроциркуляцию изучали по методу Л. Т. Малая с соавт. [7] путем биомикроскопии сосудов бульбарной конъюнктивы. Фотографирование производили зеркальной камерой «Зенит» с приставкой для микрфотографирования и удлинительными кольцами на фотопленке МЗ-ЗЛ.

При исследовании микроциркуляции бульбарной конъюнктивы учитывали периваскулярные (отек, геморрагии), сосудистые (неравномерность и соотношение калибров венул, артериол, извилистость и аневризмирование венул, артериол и капилляров, запустевание капилляров, сетчатая структура сосудов, наличие сосудистых клубочков) и внутрисосудистые («сладж» феномен, микротромбозы) нарушения. В зависимости от степени выраженности каждый из указанных признаков оце-