

ЭНДОТОКСИН КАК ИНДУКТОР ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ
АУТОФАГИИЭ. А. БАРДАХЧЬЯН, Б. А. СААКОВ, Н. И. БОЧКОВ, К. И. ПОЛЯНИН,
Ю. Г. КИРИЧЕНКО

Изучался механизм формирования вторичных лизосом аутофагического типа в адrenoцитах, сенсомоторной зоне коры больших полушарий, миокарде и почках при введении эндотоксина. Установлено, что спустя полчаса после инъекции эндотоксина содержание первичных лизосом в клетках надпочечников, нейронах, олигодендроцитах, миоцитах и эпителиальных клетках извитых канальцев увеличивается. Через час образуются аутофаголизосомы и количество первичных лизосом уменьшается. В патогенезе внутриклеточных изменений основная роль принадлежит протеолитическим лизосомальным ферментам. Предполагается, что эффекты действия эндотоксина как индуктора аутофагоцитоза могут сравниться с таковыми, возникающими в период острой ожоговой токсемии.

Ключевые слова: эндотоксин, внутриклеточная аутофагия.

Как известно, в патогенезе ожогового шока и острой ожоговой токсемии важную роль играет бактериальная интоксикация, вызванная сапрофитной флорой кишечника, различными бактериями кишечной группы и их эндотоксинами, поступающими в кровь вследствие нарушения проницаемости гемато-энтероцитарного барьера [6, 8, 16]. Именно эндотоксемия может значительно осложнять течение ожогового шока и быть причиной гибели больных в первые сутки ожоговой болезни. При этом изменения в центральной нервной системе, сердечно-сосудистой, дыхательной, выделительной, нейроэндокринной и других системах организма реально обусловлены действием токсического фактора.

Ранее нами было показано, что термическая травма у собак сопровождается существенными биохимическими и ультраструктурными сдвигами симпато-адреналовой системы [10]. Кроме того, нашими исследованиями установлено, что ожоги вызывают у собак усиленное образование вторичных лизосом в эпителиальных клетках проксимальных и дистальных канальцев, а также собирательных трубочек [3, 4], в миоцитах миокарда [2] и нейронах сенсомоторной коры больших полушарий [11].

В этой связи представляло интерес выделить одно из патогенетических звеньев ожоговой болезни—токсемию—и установить роль ее в процессе раннего формирования первичных и вторичных лизосом (аутофаголизосом) в различных органах-мишенях при введении эндотоксина.

Материал и методика. В опытах на 20-ти наркотизированных собаках и 10-ти кроликах внутривенно вводили брюшнотифозный эндотоксин из расчета 5 мг/кг веса. Материал для электронномикроскопического исследования взят через 30 и 60 мин после инъекции, что по времени соответствует торпидной фазе ожогового шока наших предыдущих эксперимента [1]. Контрольные животные (по 3 в каждой серии) получали физиологический раствор при сохранении аранжировки основных экспериментов. Кусочки миокарда из правого и левого желудочков, мозга (сенсомоторная зона коры больших полушарий), почек и надпочечников (корковое и мозговое вещество) фиксировали в 3%-ном растворе глутарового альдегида в 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,4), дофиксировали в 1%-ном забуференном растворе четырехоксида осмия и заливали в эпон-812. Ультратонкие срезы, контрастированные уранилацетатом и цитратом свинца, изучали в электронном микроскопе УЭМВ—100К и JEM—100S.

Результаты и обсуждение. При электронномикроскопическом исследовании сенсомоторной области коры больших полушарий, миокарда, почек и надпочечников контрольных собак и кроликов установлено, что ультраструктура этих органов не имеет особенностей и не отличается от ранее описанной у других мелкочитающих [7].

Спустя полчаса после внутривенного введения эндотоксина в адренкортикоцитах и хромоаффинных клетках, нервных клетках и олигодендроцитах коры больших полушарий, кардиомиоцитах и эпителиальных клетках извитых канальцев число первичных лизосом значительно увеличивается (рис. 1 а-г). По мере «созревания» их количество и степень плотности осмиофильного содержимого, заключенного в тонкую одиночную мембрану, существенно возрастают. Как правило, удается проследить связь лизосом с пластинчатым комплексом Гольджи и элементами эндоплазматического ретикулума (рис. 1 а, б).

Такое сочетание органелл впервые описано в мозге крыс после механического повреждения и получило название комплекса «ГЕРЛ» (аббревиатура составлена по начальным английским буквам слов, обозначающих три компонента, участвующих в его образовании: аппарата Гольджи, эндоплазматического ретикулума и лизосом [14]). Процесс аутофагии происходит путем так называемого «оберточного» механизма [15], когда при участии мембран цитоплазматической сети, цистерн пластинчатого комплекса, наружной ядерной мембраны, плазматической или лизосомальной мембран происходит постепенное окружение подлежащего деструкции участка цитоплазмы и образование таким образом аутофагосомы.

На рис. 1в представлена аутофагосома, содержащая гранулы гликогена, заключенные в двойные мембраны саркоплазматического ретикулума, которые на более поздней стадии переваривания, по-видимому, сливаются и образуют единую мембрану. На остальных электронограммах можно наблюдать наиболее ранние стадии аутофагоцитоза, когда происходит контакт первичных лизосом с поврежденными митохондриями. В этих случаях лизосомы утрачивают четкость структуры при одновременном нарушении непрерывности пограничной мембраны.

Следовательно, независимо от органа, особенностей ультраструктуры клеток и т. д. механизм образования аутофагосом в общем универсален. Сегрегированный участок цитоплазмы, подлежащий деградации,

в дальнейшем должен подвергнуться действию протеолитических ферментов, находящихся в неактивном состоянии в первичных лизосомах. Это становится возможным в том случае, если происходит слияние аутофагосом и первичных лизосом с образованием так называемых вторич-

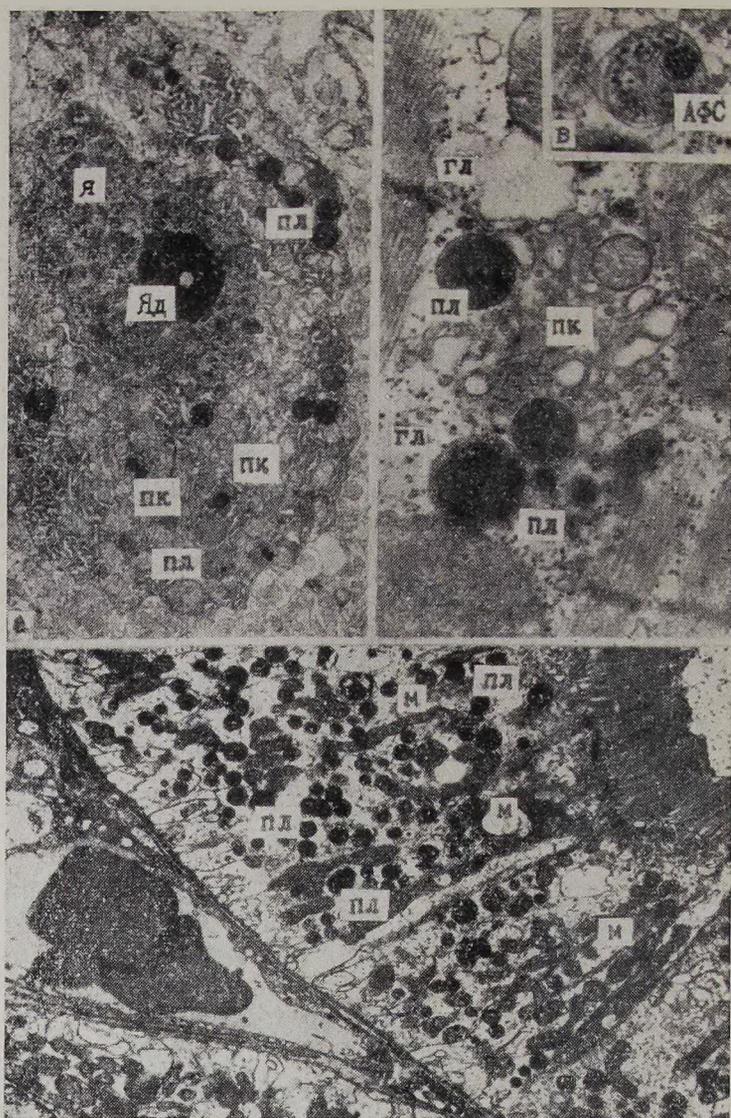


Рис. 1. Увеличение количества первичных лизосом через 30 мин после внутривенного введения эндотоксина. а—нейрон. Увел. 3000; б—формирование первичных лизосом в пластинчатом комплексе. Увел. 28000; в—аутофагосома в мноците, содержащая гранулы гликогена. Увел. 16600; г—эпителиальная клетка проксимального канальца. Увел. 7500. Условные обозначения: ПК—пластинчатый комплекс, я—ядро, м—митохондрии, пл—первичные лизосомы, гл—гликоген, АФС—аутофагосома, Яд—ядрышко.

ных лизосом аутофагического типа (аутофаголизосом) (рис. 2 а-г).
Вместе с тем количество первичных лизосом уменьшается.

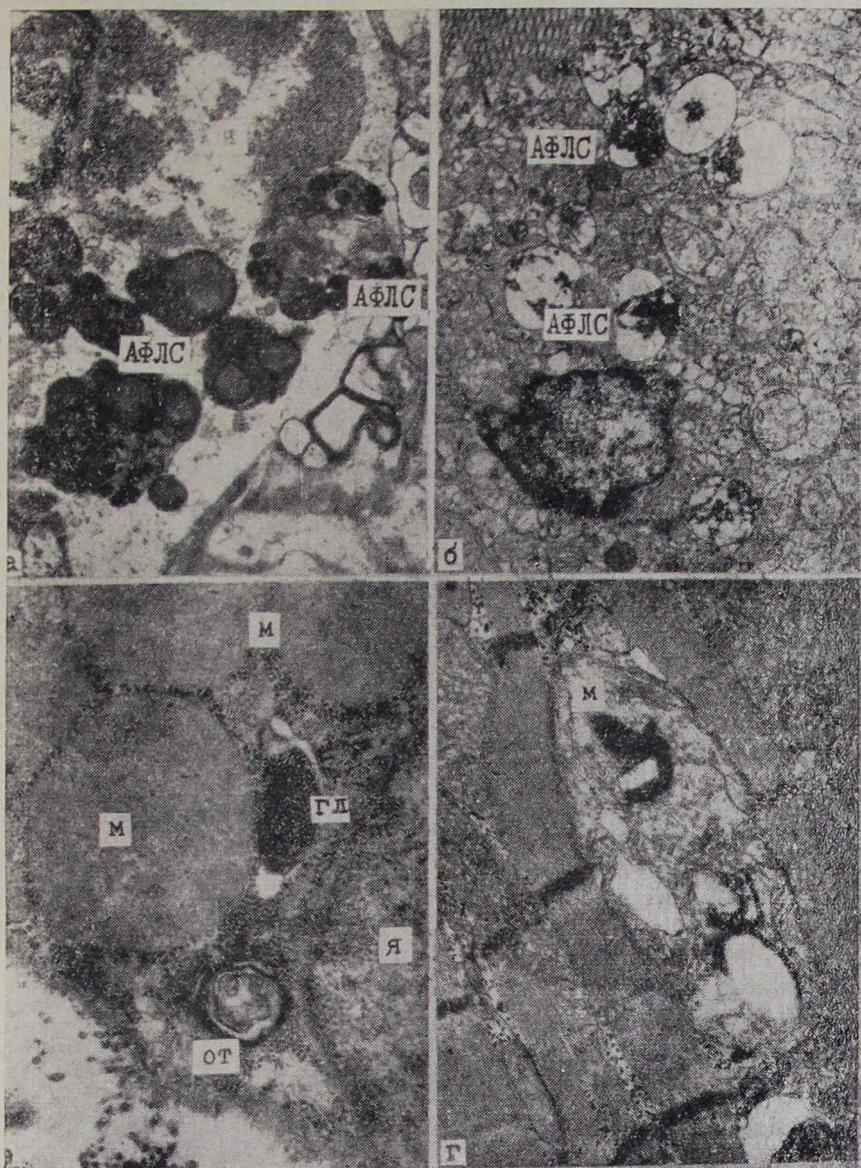


Рис. 2. Появление аутофаголизосом через 60 мин после внутривенного введения эндотоксина. а—олигодендроцит. Увел. 14000; б—эпителиальная клетка проксимального канальца. Увел. 10000; в—остаточные тельца в миоците. Увел. 15000; г—лизосома в митохондрии. Увел. 12500. Условные обозначения: АФЛС—аутофаголизосома, от—остаточные тельца (остальные обозначения те же, что на рис. 1).

Обращает внимание, что в матриксе вторичных лизосом содержится эндогенный материал в виде мембран, гранул, мелких частиц и т. д.,

их в мембранах является тем кодом, который используется для узнавания и контакта с субстратом гидролитического расщепления [9]. Пока кислые гидролазы находятся в «зачехленном» оболочкой лизосомы состоянии, последняя неактивна (рис. 4а). Однако локальное падение рН (поврежденная митохондрия) является сигналом, который направляет первичную лизосому к объекту и одновременно активирует ферменты, встроенные в ее мембрану (рис. 4б). Затем происходит специфическое взаимодействие между лизосомальной и митохондриальной мембранами

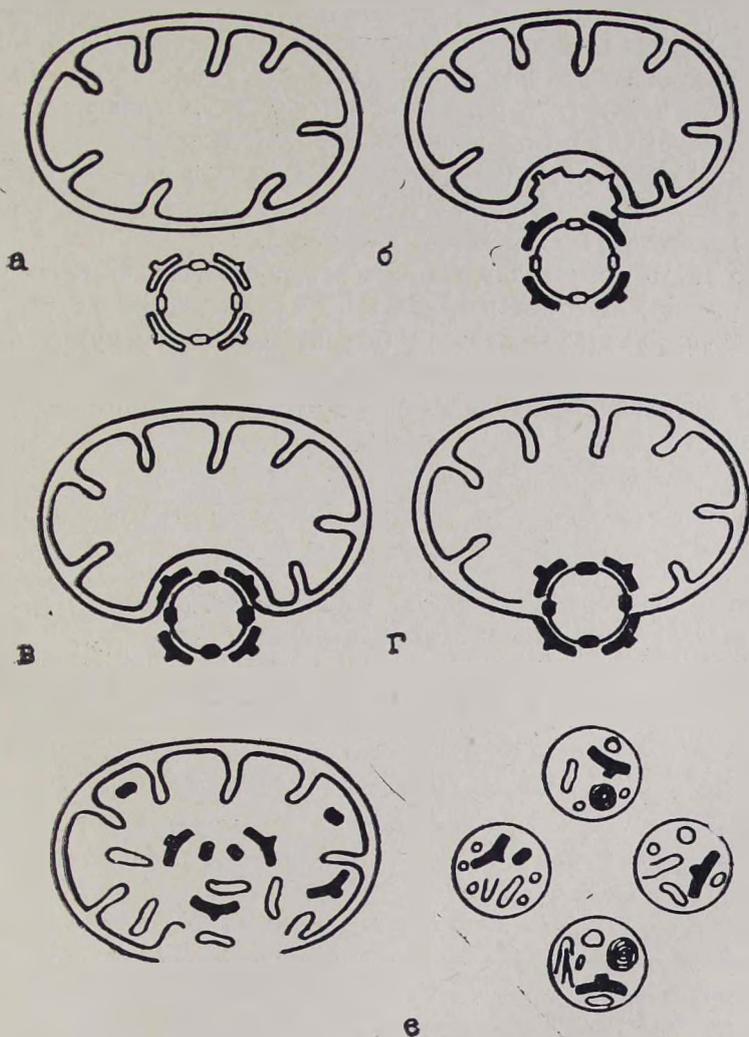


Рис. 4а—е. Схема последовательных этапов деструкции крупной митохондрии и образование аутофаголизосом (объяснение в тексте).

(рис. 4в, г), причем демонтирование оболочек этих органелл осуществляется благодаря мембранотропному действию фосфолипаз, заключенных

в их мембраны [5, 12]. Генерализованная активация ферментов дробит митохондрию на более мелкие фрагменты (рис. 4д), которые в последующем аутофагируются путем рассмотренного выше «оберточного» механизма (рис. 4е).

Таким образом, внутривенно введенный эндотоксин в периоды, соответствующие начальной фазе ожоговой токсемии (торпидная фаза), приводит к увеличению количества первичных лизосом и вторичных лизосом аутофагического типа (аутофаголизосом). Как известно, эндотоксин способствует накоплению в клетках аномальных метаболитов и сдвигу рН цитоплазмы в кислую сторону [13], а это, в свою очередь, оказывает дестабилизирующее действие на лизосомальные мембраны, что способствует повышению их проницаемости. Кроме того, инициируется сложный механизм образования аутофагосом, слияния их с первичными лизосомами и формирования аутофаголизосом.

Обобщая полученные результаты, следует еще раз отметить, что спустя 30 мин после внутривенной инъекции эндотоксина в адрено-кортикоцитах и хромафинных клетках, миоцитах, нейронах и глиальных клетках, а также в эпителии извитых канальцев увеличивается количество первичных лизосом и появляются аутофагосомы; через 60 мин возрастает число аутофаголизосом (вторичных лизосом аутофагического типа); в механизме внутриклеточных альтераций, вызванных эндотоксином, основная роль принадлежит протеолитическим лизосомальным ферментам.

Ростовский государственный
медицинский институт

Поступило 6. II. 1979 г.

ԷՆԴՈՏՈՔՍԻՆԸ ՈՐՊԵՍ ՆԵՐՀՅՈՒՍՎԱԾՔԱՅԻՆ ԱՌԻՏՈՅԱԳԱՅԻ ԻՆԴՈՒԿՏՈՐ

Է. Ա. ԲԱՐԴԱԿՅԱՆ, Բ. Ա. ՍՍՀԱԿՈՎ, Ն. Ի. ԲՈԶԿՈՎ, Կ. Ի. ՊՈՂՅԱՆԻՆ,
Յու. Գ. ԿԻՐԻՉԵՆԿՈ

Շների վրա կատարված փորձերով ուսումնասիրվել է աուտոֆագ տիպի երկրորդական լիզոսոմների կազմավորման մեխանիզմը մեծ կիսազնդերի կեղևի զգայաշարժական գոտում, միոկարդում և երիկամներում՝ էնդոտոքսինի ներարկման դեպքում:

Ապացուցված է, որ էնդոտոքսինի ներարկումից կես ժամ անց նախնական լիզոսոմների պարունակությունը նյարդաբջջիջներում, օլիգոդենդրոցիտներում, միոցիտներում և ուրոված ուղիների էպիթելային Նյուվաժքներում մեծանում է: Մեկ ժամ անց կազմավորվում են աուտոֆագոլիզոսոմները և նախնական լիզոսոմների քանակը սլակասում է: էնդոտոքսինի ազդեցությամբ առաջացած ներհյուսվածքային փոփոխությունների պաթոգենեզում գլխավոր դերը պատկանում է լիզոսոմի սպիտակուցային ֆերմենտներին: Ենթադրվում է, որ էնդոտոքսինի ազդեցության էֆեկտը, որպես աուտոֆագոցիտոզի ինդուկտորի, կարող է համեմատվել այդպիսինի հետ, որը առաջանում է սուր այրվածքային թունավորման շրջանում:

ENDOTOXIN AS INDUCTOR OF INTRACELLULAR AUTOPHAGY

E. A. BARDAKHCHIAN, B. A. SAAKOVA, N. I. BOCHKOVA,
K. I. POLYANINA, Yu. G. KIRICHENKO

The mechanism of formation of secondary lysosomes of autophagic type in adrenal cells, senso-motor zone of the cortex, myocardium and kidney after injection of endotoxin has been studied in experiments on dogs and rabbits. The increase of the content of primary lysosomes in adrenocytes, neurons, oligodendrocytes, myocytes and epithelial cells of convoluted tubules of the kidney is established.

Autophagolysosomes are increased and the number of primary lysosomes are decreased in 60 min. after the injection. In pathogenesis of intracellular alterations induced by endotoxin the main role belongs to the action of proteolytic enzymes. It is suggested that the effects of endotoxin action as inductor of autophagocytosis may be compared with the ones induced during the period of acute burn toxemia.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бардахчян Э. А., Бочков Н. И. Цитология и генетика, 10, 2, 148—153, 1976.
2. Бардахчян Э. А., Сааков Б. А. Кровообращение, 11, 2, 7—13, 1978.
3. Бочков Н. И., Бардахчян Э. А. Биолог. ж. Армении, 31, 2, 162—166, 1978.
4. Бочков Н. И., Бардахчян Э. А. Архив анат., гистол. эмбриол., 74, 6, 85—89, 1978.
5. Владимиров Ю. А., Сорсковой В. И. В кн. Мат-лы советско-французского симпозиума по патологии клетки. 19—25, М., 1975.
6. Вторин Б. В., Каем Р. И. Арх. пат., 38, 6, 27—33, 1976.
7. Зуфаров К. А., Ташходжаев П. И., Шишова Е. К., Хамидов Д. Х. Атлас. Электронная микроскопия органов и тканей. Ташкент, 1971.
8. Киселев П. Н. Токсикология инфекционных процессов. Л., 1971.
9. Покровский А. А., Ташев Т. А., Тютельян В. А., Крычев Л. П., Кравченко Л. В., Бояджијева Ж. К., Дронзин Р. Т. Цитология, 19, 10, 1171—1174, 1977.
10. Сааков Б. А., Бардахчян Э. А. Бюлл. эксп. биол. и мед., 85, 6, 760—765, 1978а.
11. Сааков Б. А., Бардахчян Э. А. Пат. физиология, 2, 72—76, 1978б.
12. Barrett A. J. In: Lysosomes. Amsterdam., 42—57, 1972.
13. Janson P. M. S., Kuhn S. H., Geldehuys J. J. S. Afr. Med. J., 49, 26, 1041—1047, 1975.
14. Novicoff A. B. In: The neuron. Amsterdam, 255—274, 1967.
15. Saito T., Ogawa K. Acta histochem., cytochem., 7, 1, 1—18, 1974.
16. Seivitt S. Burns. Pathology and therapeutic applications, London, 1975.