

19. Dishe L., Shettles L. B. A specific color reaction of methyl pentoses and a spectrophotometric micromethod for their determination // J. Biol. Chem.—1948.—175.—P. 595—603.
20. Hirschowitz B. I. Towards a rational treatment of duodenal ulcer // S. Afr. Med. J.—1984.—65.—P. 987—995.
21. Murad F., Mittal C. K., Arnold W. P. et al. Guanylate cyclase activation by azide nitro compounds, nitric oxide hydroxyl radical and inhibition by hemoglobin and myoglobin // Advances in cyclic nucleotide research / Eds. by W. Y. George, L. Y. Ignarro.—New York: Raven press.—1978.—Vol. 9.—P. 145—159.
22. Schulz I., Wakasugi H., Solze H. et al. Analysis of Ca^{2+} fluxes and their relation to enzyme secretion in dispersed pancreatic acinar cells // Fed. Proc.—1981.—40, N 10.—P. 2503—2504.
23. Schwartz M., Kashiwa H. K., Jacobson A. et al. Concentration and localization of calcium in frog gastric mucosa // Amer. J. Physiol.—1967.—212, N 2.—P. 241—246.
24. Sung C. P., Jenkins B. C., Burns L. R. et al. Adenyl and guanyl cyclase in rabbit gastric mucosa // Ibid.—1973.—225, N 6.—P. 1359—1363.
25. Takeguchi C., Sin C. J. A rapid spectrophotometric assay for prostaglandin synthetase: Application to the study of nonsteroidal anti-inflammatory agents // Prostaglandins.—1972.—2.—P. 169—184.
26. Warren L. The thiobarbituric acid assay of sialic acids // J. Biol. Chem.—1959.—234.—P. 1971—1975.

Тернополь. мед. ин-т
М-ва здравоохранения УССР;
Ин-т биохимии АН АрмССР

Поступила 10.12.86

УДК 616.073.788:612.334:576.851.49:616.9—092.61.9

Ультраструктурный анализ изменений в структурно-функциональном модуле слизистой оболочки тонкой кишки при действии сальмонеллезного токсина в эксперименте

С. А. Крамарев, В. К. Ковальчук

Электронно-микроскопические исследования гистиона при изучении действия сальмонеллезного токсина на слизистую оболочку тонкой кишки выявляют достаточно быструю перестройку ультраструктуры клеток, расположенных на внесосудистом отрезке микроциркуляторного русла собственной пластинки [2]. Это сопровождается заметным повышением уровня цНМФ в слизистой оболочке [1] и расценивается как защитная или компенсаторная реакция ткани. Цель данной работы — изучение ультраструктурной реакции всего структурно-функционального модуля слизистой оболочки, включающего гистион, эффекторные клетки эпителия, а также нервный аппарат, обеспечивающий этой функциональной системе способность к аутокоррекции.

Методика

Действие сальмонеллезного токсина было проведено на беспородных белых крысах-самцах массой 150—200 г. Сальмонеллезный токсин, полученный методом Буявена, вводили внутривентриально (10 мг/100 г массы). Забор материала для исследований осуществляли через 3 и 24 ч после введения сальмонеллезного токсина. Для просвечивающей электронной микроскопии материал фиксировали в 2,5 %-ном растворе глутаральдегида в буфере Миллоница или какодилатном буфере и в 1 %-ном растворе четырехокси осмия в том же буферном растворе. Обезжизнили материал по общепринятым методикам и заливали в смесь эпоксидных смол эпон — аралдит. Активность щелочной фосфатазы определяли по Хьюгону и Боргерсу в модификации Тигу. Полутонкие срезы окрашивали толудиновым синим. Ультратонкие срезы готовили на Ультротоме-III (ЛКБ) и просматривали в электронном микроскопе ЭМВ-100Л. Для оценки энзимной активности был использован статистический метод на основе случайного отбора электронограмм, стереологического принципа их обработки с помощью прямоугольной тест-сетки и по параметру количества гранул осадочной реакции на щелочную фосфатазу.

Результаты и

Через 3 ч по
собственной п.
умеренное рас
эпителиально,
многих сосуда
лярно наблю



Рис. 1. То
эндотокси
(тщ) у
×14 000.

сосудов — неб
тучных клеток
дегрануляция.
микроциркуля
ной функции:
в эндотелиоци
та — умножал
В утолще
периваскуляр
тельное число
сти к одному
ная мембрана
ренной и ум
масс, рисунок
стициальный
ризовался ум
новых волок
лиморфноядер
опустошенных
также с приз
ном состоянии
телиальной ба
ной. В эпите
эндокриноцит
число нейросе
препаратами)
пространства

Результаты и их обсуждение

Через 3 ч после введения в кровь сальмонеллезного эндотоксина в собственной пластинке слизистой оболочки тонкой кишки отмечалось умеренное расширение кровеносных капилляров, расположенных субэпителиально, и сужение просвета значительной части артериол. Во многих сосудах имела место «структурализация» кровотока, нерегулярно наблюдаемое склеивание эритроцитов. У стенок кровеносных



Рис. 1. Тонкая кишка крысы через 3 ч после введения сальмонеллезного эндотоксина. Полиморфноядерный лейкоцит (лкц) и тканевой базофил (тцц) у стенки субэпителиального кровеносного капилляра (кап). $\times 14\ 000$.

сосудов — небольшие скопления полиморфноядерных лейкоцитов и тучных клеток (рис. 1). В цитоплазме последних иногда наблюдалась дегрануляция. Эндотелиальная выстилка нутритивной части микроциркуляторного аппарата гистиона находилась в состоянии повышенной функции: межэндотелиальные люки большей частью расширены, в эндотелиоцитах отмечалась активация трансцеллюлярного транспорта — умножалось число полиморфных цитоплазматических везикул.

В утолщениях по ходу нервных волокон на участках контактов с периваскулярными гладкомышечными клетками содержалось незначительное число медиаторных пузырьков независимо от их принадлежности к одному из четырех структурно-функциональных типов. Базальная мембрана нервных волокон при этом выглядела несколько расширенной и умеренно уплотненной за счет накопления аморфных масс, рисунок мембран нервных волокон был нечеток (рис. 2). Интерстициальный гель собственной пластинки слизистой оболочки характеризовался умеренной гидратацией, небольшим содержанием коллагеновых волокон; среди них располагались нейтрофильные полиморфноядерные лейкоциты с высоким содержанием частично опустошенных специфических гранул, тканевые базофилы (мастоциты), также с признаками частичной дегрануляции, и макрофаги в активном состоянии. Скопление этих клеток обнаруживалось и в субэпителиальной базальной пластинке. Гидратация последней была умеренной. В эпителиальном слое заметным изменениям подвергались эндокриноциты (клетки Кульчицкого), в которых резко уменьшалось число нейросекреторных включений (по сравнению с контрольными препаратами) и возрастала вакуолизация цитоплазмы. Межклеточные пространства в базальной части эпителиального слоя были расшире-

ны, электронопрозрачные. Число мигрирующих сюда мезенхимальных клеток было невелико.

Степень перестройки энтероцитов коррелировала с уровнем их дифференциации: ультраструктура клеток герминативных зон крипт практически не изменялась, а у микроворсинчатых эпителиоцитов, выстилающих крипты, отмечена повышенная секреторная функция, морфологическим эквивалентом которой являлись мелкие полиморфные микропузырьки, которые формировались в пространствах между

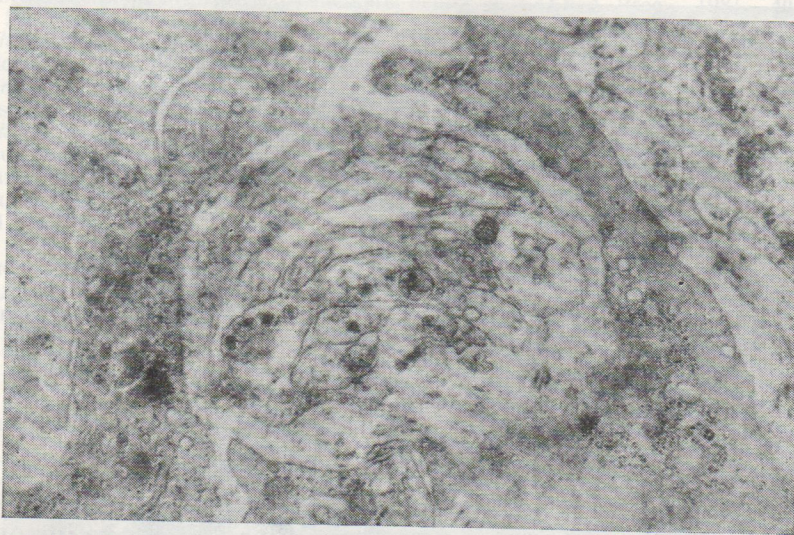


Рис. 2. Околососудистый нейромоторный контакт в собственной пластинке слизистой оболочки тонкой кишки крысы через 3 ч после введения сальмонеллезного эндотоксина. Уменьшение числа медиаторных пузырьков в нейронах, дистрофические изменения структуры нервного волокна. $\times 20\,000$.

микроворсинками и мигрировали оттуда в полость крипт. Исчерченная каемка дифференцированных энтероцитов на поверхности ворсин претерпевала значительные изменения: микроворсинки обнаруживали тенденцию к редукции, дезорганизации и исчезновению; на поверхности цитолеммы выявлялись крупные прозрачные различной конфигурации пузырьки, которые иногда достигали внушительных (до 5 мкм в диаметре) размеров и обладали, по-видимому, достаточно высокими упругостью и запасом энергии. Об этом свидетельствовала их способность деформировать отдельные микробные тела и перемещать их в сторону просвета кишки (рис. 3). Интенсивное выделение пузырьков поверхностью энтероцитов могло приводить к дислокации микрофлоры из занимаемой ими пристеночной зоны, а также к сдвигу муциновых масс, располагающихся вблизи исчерченной каемки, по направлению просвета кишки.

Изменение активности щелочной фосфатазы через 3 ч после введения сальмонеллезного эндотоксина наблюдалось на всех участках структурно-функционального модуля, а также в тех местах, где она обычно не выявляется: на поверхности эритроцитов в просвете кровеносных капилляров, в толще плазмы крови, на поверхности эндотелиальных клеток и в межклеточном геле. При этом можно отметить определенный градиент активности щелочной фосфатазы по мере удаления от микрогемодиализаторного русла. Гранулы осадочной реакции на щелочную фосфатазу располагались на пути трансэпителиального перемещения субстратов: в межклеточных пространствах базальной части эпителиального слоя, апикальной части цитоплазмы энтероцитов, на поверхности апикальной цитолеммы этих клеток. По мере продвижения к просвету кишки гранулы соединялись в конгломераты и на поверхности клеток образовывали плотные округлые структуры

(рис. 4). Гену-живалась в микроворсинках. Через 24 турно-функциональные изменения, на мест-цифических г



Рис. 3. Ис-сальмонел-усиление фосфатазы-зырьки, б/

рофилов и лаб-вались заметн-отдельных эле-ретикулярных-ния цитоплазм-ального слоя в-но и по функц-в плазмолемме-гранул осадка-ливались в при-ли представле-с диаметром 5-верхности глик-ке выявилась н-клеток сосудов-энтероцитов, вх-

Анализ по-разовое поступ-вает быструю, структурно-фун-детерминирован-дающего факто-ного комплекса-фосфатазы на с-ции указывает-ме собственной-реакции на ще

(рис. 4). Генуинная щелочная фосфатаза исчерченной каемки обнаруживалась в виде отдельных редких гранул на мембранном контуре микроворсинок.

Через 24 ч после введения сальмонеллезного эндотоксина в структурно-функциональном модуле были отмечены выраженные раституционные изменения — нормализовались взаимоотношения в сосудистом ложе, на местах нейромышечных контактов, увеличивалось число специфических гранул в эндокриноцитах, снижалась концентрация нейт-

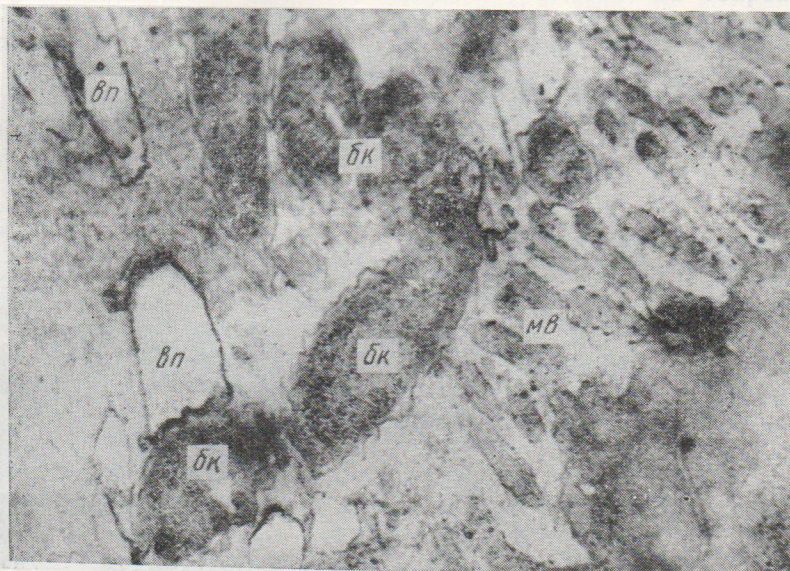


Рис. 3. Исчерченная каемка энтероцита крысы через 3 ч после введения сальмонеллезного эндотоксина. Дезорганизация микроворсинок (мв), усиление экзоцитозной активности клеток, низкая активность щелочной фосфатазы апикальной плазмолеммы. $\times 20\,000$; вп — секреторные пузырьки, бк — бактерии.

рофилов и лаброцитов в собственной пластинке. В то же время оставались заметными незначительная гидратация межуточного геля, в отдельных элементах собственной пластинки (макрофагах, лейкоцитах, ретикулярных клетках) сохранялись следы ограниченного повреждения цитоплазмы — ламеллярные включения. Архитектоника эпителиального слоя восстанавливалась полностью не только по структурным, но и по функциональным признакам. Активность щелочной фосфатазы в плазмолемме микроворсинок снижалась до исходной концентрации гранул осадка специфической реакции. Обычные соотношения устанавливались в пристеночной зоне эпителия. Выделительные пузырьки были представлены унифицированными по форме и размеру структурами с диаметром 5—8 нм. Уменьшался или исчезал слой муцинов на поверхности гликокаликса. Щелочная фосфатаза в собственной пластинке выявилась на обычных местах: на цитомембранных эндотелиальных клетках сосудов, плазматических клетках, макрофагах, на цитолемме энтероцитов, входящей в состав базальной мембраны.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что однократное поступление сальмонеллезного эндотоксина в кровоток вызывает быструю, но легко купируемую реакцию основных элементов структурно-функционального модуля. Эта реакция имеет динамически детерминированную координацию, направлена на устранение повреждающего фактора и сохранение гомеостаза эпителиально-мезенхимального комплекса слизистой оболочки. Повышение активности щелочной фосфатазы на сосудистом и интерстициальном участках микроциркуляции указывает на резкий функциональный сдвиг в транспортной системе собственной пластинки слизистой оболочки; скопления продуктов реакции на щелочную фосфатазу в просвете сосудов и толще интер-

стициального геля вне связи с мембранами может быть обусловлено поступлением в кровяное русло изоферментов гетеротопического происхождения, диффузией их (в силу повышенной проницаемости стенки сосудов) в межклеточные пространства соединительной и эпителиальной тканей и последующим выводом на поверхность слизистой оболочки. Увеличение каталитической активности щелочной фосфатазы, локализуемой на клеточных мембранах, можно расценивать как регуляторную реакцию клеток на изменение обменных процессов. Крат-

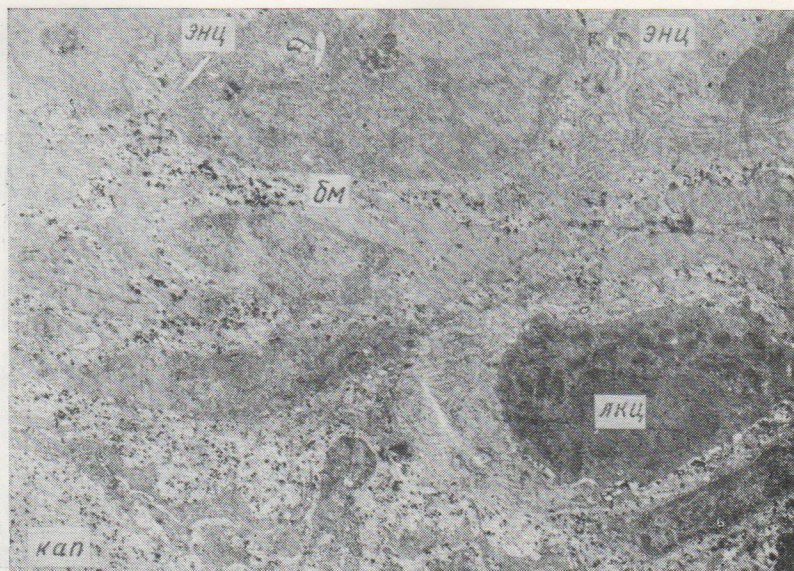


Рис. 4. Распределение активности щелочной фосфатазы в собственной пластинке слизистой оболочки на участке кровеносный капилляр (кап) — базальная мембрана (бм) эпителия (3 ч после введения сальмонеллезного эндотоксина). $\times 10\,000$; энц — энтероцит, лкц — полиморфноядерный лейкоцит.

ковременное повышение ферментативной активности может быть реализовано не только увеличением концентрации фермента в ткани, но и активности его молекул под опосредованным действием сальмонеллезного эндотоксина, который способен изменять рН среды, ее ионный состав, содержание коферментов и кофакторов или обуславливать действие аллостерических эффектов на конформацию белка. Сопоставление сдвигов активности щелочной фосфатазы с ультраструктурными эквивалентами проницаемости сосудов и выделительной функцией эпителия позволяет выявить компенсаторный механизм предупреждения гипергидратации интерстициального геля собственной пластинки, основанный на выведении избыточной жидкости через эпителий во внешнюю среду. Уровень ферментного обеспечения транспортных процессов позволяет трактовать выделение жидкости энтероцитами как активную секрецию, направленную на ауторегуляцию водного баланса в собственной пластинке, на сохранение гомеостаза в пристеночном пространстве кишок и на усиление барьерной функции энтероцитов с поврежденной или отсутствующей исчерченной каемкой, а не как явление пассивной трансудации. Изоферменты щелочной фосфатазы тканевого происхождения, обнаруживаемые на поверхности энтероцитов, не могут, по-видимому, компенсировать дефицит ее активности в плазмолемме микроворсинок, так как они не связываются с мембраной последних. Тесная морфофункциональная связь эпителия с пристеночным слоем просвета кишки, зависимость их обоих от микроциркуляторных сдвигов в собственной пластинке дают основание рассматривать зону внешней среды, примыкающую к поверхности слизистой оболочки кишки, как составное звено в структуре функционального модуля, через которое осуществляется двусторонняя связь его с кишечным каналом.

Выводы

1. Одномоментное повышение активности щелочной фосфатазы в кровяном русле — компенсаторная реакция на нарушение тканевых взаимоотношений.
2. Повышение активности щелочной фосфатазы в слизистой оболочке кишечника под влиянием сальмонеллезного эндотоксина — усиление эпителиальной функции.
3. Кратковременное повышение активности щелочной фосфатазы в слизистой оболочке кишечника — усиление эпителиальной функции.

ULTRASTRUCTURAL STUDIES OF THE MODULUS OF THE MUCOSA BY SALMONELLA

S. A. Kramarev,

Studies conducted once the blood circulation of mucosa by the end of the differentiated end in that period.

A. A. Bogomolet Academy of Science A. V. Gromashev Ministry of Public Health

1. Жидков И. Л. моделирование процессов: Теория и практика.
2. Синельникова И. В. изменения эндотоксина.

Киев. мед. ин-т. М-ва здравоохранения. Киев. ин-т эпидемиологии и инфекционных болезней. М-ва здравоохранения.

УДК 612.015.3+541

Влияние энтероцитов на систему

Н. А. Беляков, Л. А. Смирнова,

Метод энтероцитов с патологией инфекционной природы при острых заболеваниях.